

Ueber das Differenzirungsvermögen

von

Bacterium coli commune und Bacillus Typhi abdom.

auf

Harn-Nährsubstraten.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

vorgelegt

von

Max Piorkowski

aus Beuthen O.-Schl.

Tag der mündlichen Prüfung: 10. März 1896.

✱

Berlin.

Buchdruckerei J. Rares (früher Hans Mamroth).

1896.

Dem Andenken
der theuren verstorbenen Eltern!

Ueber das Differenzirungsvermögen von *Bacterium coli commune* und *Bacillus Typhi abdom.* auf Harn-Nährsubstraten.

Der Typhusbacillus, jetzt allgemein als der Erreger des Abdominaltyphus anerkannt, ist fast gleichzeitig von Eberth und Koch im Jahre 1880 entdeckt worden.

Er bildet ein Stäbchen von 2—3 μ Länge und etwa 0,5 μ Breite, hat demnach eine kurze, plumpe Form; seine Enden sind abgerundet.

Sein mikroskopisches Bild ist jedoch nicht massgebend für seine Identität. Namentlich ist es ein Kurzstäbchen, das in variierender Grösse auftretend (von 1—5 μ Länge und 0,3—0,6 μ Dicke) und regelmässig in Fäces und demnach auch im Boden und im verunreinigten Wasser angetroffen, sowohl im mikroskopischen Bilde, wie auch in den bisher bekannt gewordenen kulturellen Methoden ausserordentlich schwer von ihm zu differenziren ist.

Es ist dies das *Bacterium coli commune*, im Jahre 1885 von Escherich¹⁾ in den unteren Parthien des normalen Säuglingsdarmes gefunden.

Seitdem ist man eifrig bemüht, sichere Anhaltspunkte für die Unterscheidung dieser beiden, für die Kranheits-Diagnose so überaus wichtigen, Bakterienarten zu sammeln.

Eine ungemein reichhaltige Litteratur, die über die verschiedenartigsten Versuche handelt, wesentliche Merkmale zur Auseinanderhaltung jener beiden Mikroben

¹⁾ Fortschritte der Mediz. 1885. No. 16 u. 17.

zu finden, giebt Zeugniß von dem Forschungsdrange nach dieser Richtung hin. Kiessling¹⁾ hat sich der Mühe unterzogen ein zusammenfassendes Referat über das *Bacterium coli commune* zu schreiben und führt 229 Arbeiten an, die zum grossen Teil dessen Differenzirung vom *Typhusbacillus* betreffen. In der neuesten Zeit ist er noch überholt worden von Lösener²⁾, der seiner Arbeit, laut der er sämtliche Controllversuche der bisher veröffentlichten Methoden durchführte, einen Litteraturnachweis über 689 diesbezügliche Ermittlungen anfügt. Erwägt man, dass Kiessling über 100 Arbeiten angiebt, die von Lösener gar nicht erwähnt sind, so lässt sich ungefähr ermessen, wie ausserordentlich mächtig das diesbezügliche Material angeschwollen ist.

Aber alle die Merkmale, die bisher bekannt geworden sind, geben doch keinen absolut sicheren Anhalt für die zweifelloose Constatirung der Diagnose.

Während dem *Bacterium coli commune* keine besondere pathogene Einwirkung auf den Menschen zukommt, wie wiederholte Versuche erwiesen haben, besitzt der *Typhusbacillus* solche in eminentem Maasse und naturgemäss concentrirt sich das Hauptinteresse auf diesen. Aber nur eine ganze Reihe von Untersuchungen des letzteren *Bacillus* nach verschiedenen Richtungen hin ermöglicht die Annahme der Wahrscheinlichkeit seiner Identität.

Vor Allem hindernd wirkt die Thatsache, dass es keine Thierspecies giebt, die auf das Typhusgift reagirte.

Günther³⁾ schreibt hierüber: „Der Mangel einer empfänglichen Thierspecies macht sich besonders in solchen Fällen fühlbar, wenn es sich darum handelt, zu entscheiden, ob eine Bakterienart, die man irgendwo in

¹⁾ S. Kiessling. Hygien. Rundschau 1893. No. 16 u. 17.

²⁾ W. Lösener. Ueber das Vorkommen von Bakterien mit den Eigenschaften des *Typhusbacillen* in unserer Umgebung ohne nachweisbare Beziehungen zu Typhuserkrankungen nebst Beiträgen zur bacteriologischen Diagnose des *Typhusbacillen*. Arbeiten aus d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1895. Bd. XI.

³⁾ C. Günther. Einführung in das Studium der Bakteriologie. Leipzig 1893.

der Natur, ausserhalb des menschlichen Körpers, gefunden hat, mit einer bestimmten für den Menschen pathogenen Art identisch ist oder nicht. Wenn z. B. bei Gelegenheit einer Typhusepidemie in dem infectionsverdächtigen Brunnenwasser eine bestimmte typhusbacillenähnliche Bakterienart gefunden worden ist; welche Kriterien giebt es, die die sichere Entscheidung, ob der Typhusbacillus vorliegt oder nicht, ermöglichen? Wir können ganz im Allgemeinen sagen, dass wir in derartigen Fällen, in denen es sich um für den Menschen specifisch pathogene Arten handelt, die, ausserhalb des erkrankten menschlichen Körpers oder ausser Zusammenhang mit einem bestimmten entsprechenden Krankheitsfalle aufgefunden, indentificirt werden sollen, fast jedesmal auf ein negatives Urtheil angewiesen sind. Wir müssen nämlich in solchen Fällen — bei dem Mangel einer empfänglichen Thierspecies — uns nothgedrungen damit begnügen, die Wachstums- und Lebenserscheinungen der zu bestimmenden Bakterienart auf den verschiedensten künstlichen Nährböden und unter den verschiedensten sonstigen äusseren Bedingungen zu studiren (am besten unter ständiger Vergleichung mit einer authentischen Cultur der entsprechenden pathogenen Art).“

Bisher konnten weder spontane Erkrankungen bei Thieren beobachtet werden, noch ist es durch Einbringung von typhösem Material möglich gewesen, typische Infectionen hervorzurufen.

Die mit den Typhusculturen geimpften Thiere gingen wohl zu Grunde und es konnten nach dem Tode auch Typhusbacillen in den verschiedensten Körpertheilen, wie im Darminhalt nachgewiesen werden, aber durch eingehende Untersuchungen, namentlich von Beumer und Peiper¹⁾, Baumgarten²⁾ und Brieger, Kitasato und

¹⁾ Beumer und Peiper. Zur ätiologischen Bedeutung der Typhusbacillen. Centralbl. f. klinische Mediz. 1886. No. 37 und Bacteriol. Studien über die ätiolog. Bedeutung der Typhusbacillen. Zeitschrift f. Hygiene. Bd. I, 1886⁴⁸⁹ u. Bd. II, 1887¹¹⁰.

²⁾ Baumgarten. Ueber Infectionsversuche mit Typhusbacillen. Centralbl. f. klin. Mediz. 1887. No. 4, 57.

Wassermann¹⁾ wurde ermittelt, dass nicht eine Infection, vielmehr eine, durch das in den Culturen enthaltene Toxin hervorgerufene Intoxication zu Grunde lag.

Tayon²⁾ unternahm es sogar, sich und anderen Personen, aus dem Blute von Typhösen gewonnene Typhusbacillen zu injiciren. Die Geimpften wurden aber nur von fieberhaften und diarrhoischen Zuständen befallen, während sich an den Injectionsstellen entzündliche Reactionen einstellten.

Dagegen gelingt es durch gleichzeitige Einbringung von einem Gemisch aus Typhusculturen und denen anderer pathogener oder nicht pathogener Bacterien die Virulenz der Typhusbacillen auf Thiere zu erhöhen.

Ich habe schon oben erwähnt, dass nur eine ganze Serie von Untersuchungen der verdächtigen Bacillen und namentlich des sehr polymorphen *Bacterium coli commune* nach verschiedenen Richtungen hin es ermöglicht, sie vom *Typhusbacillus* zu differenzieren.

Nach dem heutigen Stande der Wissenschaft können wir auf die Wahrscheinlichkeit der Identität des *Typhusbacillus* schliessen, wenn namentlich folgende Grundbedingungen insgesamt das typische Verhalten aufweisen:

1. Die Beweglichkeit im hängenden Tropfen.
2. Die Geisselfärbung.
3. Die Gährungsprobe.
4. Die Milchprobe.
5. Die Indolreaction und
6. das Wachsthum auf Kartoffeln.

Legen wir die Reihenfolge dieser Postulate zu Grunde, so käme zunächst in Betracht: Die Beweglichkeit im hängenden Tropfen.

Die Beweglichkeit des *Typhusbacillus* ist eine ziemlich lebhafte, bald schlängelnde, bald pendelnde.

¹⁾ Brieger, Kitasato und Wassermann. Ueber Immunität und Giftfestigung. Zeitschr. f. Hygiene XII, 137.

²⁾ Tayon. Sur les inoculations du microbe de la fièvre typhoïde. Progrès médic. 1885, No. 34 und: Sur le microbe de la fièvre typhoïde de l'homme; culture et inoculation. Comptes rendus t. XCIX. a, tC, Cl, 1886.

Camillo Terni¹⁾ giebt als Beweglichkeitsoptimum für den Typhusbacillus peptonfreie, natursaur 3 procentige Glycerinbouillon an, Remy und Sugg²⁾ fanden lebhaftere Beweglichkeit in, mit schwachem Zusatz von Antiseptic. namentlich mit Kalidichromat im Verhältnis von 1:6000 versetzten Bouillonculturen. Germano und Maurea³⁾ benutzten 2 proc. Traubenzuckerbouillon.

Dem Bacterium coli commune kommt fast ausschliesslich träge Eigenbeweglichkeit zu. Es ist aber einigen Forschern gelungen, auch Colonbakterien mit erhöhter Beweglichkeit zu erziehen und darum ist diese Methode für sich allein nicht massgeblich.

Die Beweglichkeit wird, und damit komme ich gleichzeitig zum zweiten Punkte der vorher gestellten Forderungen, Geisseln zugeschrieben, die dem Bacterienleibe anhaften, über deren Anzahl die Ansichten der Forscher aber sehr auseinandergehen.

Zuerst war es Robert Koch⁴⁾, der mit concentrirter, wässriger Lösung von Campeche-Extract Geisselfäden zu färben versuchte, was nur unvollkommen gelang.

Löffler⁵⁾ war es vorbehalten ein geeignetes Verfahren zur Färbung der Geisseln aufzufinden, indem er sich eine Beize bereitete, welche nach der von ihm verbesserten Methode⁶⁾ eine mit Fuchsin gefärbte Eisentannatlösung vorstellte.

¹⁾ C. Terni: La diagnosi differenziale del bacillo del tifo. Ann. dell'ist. d'igien. sper. di Roma. Vol. III (nuova ser.), Fasc. III. 1893.

²⁾ Remy et Sugg: Recherches sur le bacille d'Eberth-Gaffky. Caractères distinctifs du bacille de la fièvre typhoïde. Procédés pour le retrouver dans les eaux potables. Première partie: Du diagnostic du bacille d'Eberth-Gaffky et des caractères le distinguant des micro-organismes pseudo-typhiques. Travaux du laboratoire d'Hygiène et de Bactériologie de l'université de Gand. Vol. I. 1893. c. 2.

³⁾ Germano u. Maurea: Vergleichende Untersuchungen über den Typhusbacillus und ähnliche Bacterien. Ziegler's Beiträge XII, 494.

⁴⁾ R. Koch: F. Cohn's Beiträge z. Biologie der Pflanzen. Bd. II, 1877, 419.

⁵⁾ Löffler: Centralblatt f. Bakteriologie und Parasitenkunde. Bd. VI, 1889, No. 8/9.)

⁶⁾ Derselbe. Centrbl. f. Bakter. etc., Bd. VII, 1890, No. 20.

Ludwig Luksch¹⁾ verwendete zur Ausführung seiner Methode die Löffler'sche Beize, die er insofern modificirte, als er eine kalt gesättigte Lösung von Ferriacetat nach Angabe Löffler's herstellte und derselben noch 5 bis 10 Tropfen Essigsäure hinzufügte. „In auf diese Weise behandelten Präparaten zeigt das *Bacterium coli commune* 1 bis höchstens 3 Geisselfäden, während ebensolche Präparate des *Bacillus typhi abdominalis* 8 bis 12 Geisselfäden an einzelnen Individuen erkennen lassen. Es gelingt nicht leicht, die Geisselfäden des *Bacter. coli commun.* zu färben, ja es muss hervorgehoben werden, dass sich das *Bacter. coli com.* sehr widerpenstig gegen Geisselfärbung zeigt. Unter einer ziemlich grossen Bacterienspecies, die auf Geisselfäden untersucht wurden, war keines so schwierig zu färben, als das *Bacter. coli*. Es bedarf der sorgfältigsten Ausbreitung kleiner diluirter Mengen von jungen Agar-culturen auf dem Deckglase und eifriger Suche, um die Geisselfäden im Zusammenhange mit dem Bacterienleibe zu sehen. Abgerissene Geisselfäden sind in grösserer Menge vorhanden.

Aber auch dann, wenn man nur abgerissene Geisselfäden, besonders in älteren Culturen, sehen sollte, ist die Unterscheidung der Präparate von *Bacterium coli* von denen des *Bacill. typhi* leicht, denn bei letzteren Präparaten ist das ganze Gesichtsfeld von freien Geisseln und solchen im Zusammenhang mit den Bacillen durchsetzt.“

Luksch hält demnach seine Methode für ein sicheres Differenzierungsmittel und ihm schliessen sich Remy und Sugg²⁾ an, die mit Löffler'scher Beize und Nachfärbung mit schwacher Anilinwassergentianaviolettlösung arbeiteten und stets weniger Geisseln beim *Bacter. coli com.*, als beim *Bacill. typh. abdom. const.* tiren konnten.

¹⁾ Ludw. Luksch: Zur Differenzialdiagnose des *Bac. typhi abdominal.* (Eberth) und des *Bacter. coli commun.* (Escherich). Centralbl. f. Bakter. etc. 1892, Bd. XII.

²⁾ Remy u. Sugg: Travaux du laborat. d'Hyg. et de Bacter. de l'Université de Gand. Vol. I, c. 2, 1893.

Auch Fremlin¹⁾, Faber²⁾ und Chantemesse und Widal³⁾ kommen zu ähnlichen Resultaten. Ebenso befassten sich Nicolle und Morax⁴⁾ mit Geisselfärbungen und fanden beim *Bacter. coli com.* 6 bis 10, beim *Typhusbacillus* 10 bis 12 Geisseln.

Dagegen halten Pasquale⁵⁾, Ferrati⁶⁾ Dunbar⁷⁾ Moore⁸⁾ und Klemensiewicz⁹⁾ die Differenzirung der beiden Bakterienarten, sowohl des *Colonbacillus*, wie anderer typhusähnlichen Bakterien und des *Typhusbacillus* für problematisch. Auch De Stöcklin¹⁰⁾ hat Geisselbestimmungen mit Löffler'scher Beize unternommen mit Zusatz einer bestimmten Anzahl Tropfen von Alkali oder Säure. Auf die Species der Bakterien schloss er durch den Verbrauch an Tropfen, die zur Kenntlichmachung der Geisseln nothwendig waren.

Die eingehendste Arbeit, die mir aufgestossen ist, ist wohl die von Bunge¹¹⁾, und ich habe sie eine geraume Zeit hindurch sehr sorgfältig geprüft.

¹⁾ Fremlin: Vergleichende Studien am *Bacter. coli commun.* verschiedener Provenienz. *Archiv f. Hygiene.* Bd. 19, 295.

²⁾ Faber: Ueber den Nachweis der *Typhusbacillen* in den Dejectionen. *Inaugur.-Dissertat.* Würzburg 1888.

³⁾ Chantemesse u. Widal: *Complication de la fièvre typhoïde; néphrite infectieuse due au coli-bacille.* *Sem. méd.* 1893, No. 1; XIII, 7.

⁴⁾ Nicolle et Morax: *Technique de la coloration des cils.* *Annales de Pasteur* 1893, 554.

⁵⁾ Pasquale: *Sul tifo a Massana.* *Giorn. med. del R. Eserc. e della R. Mar.* 1891. (Ref. Hygien. Rundschau. II, 289.)

⁶⁾ Ferrati: Zur Unterscheidung des *Typhusbacillus* vom *Bacter. col. comm.* *Archiv f. Hygiene*, XVI, 1.

⁷⁾ Dunbar: Untersuchungen über den *Typhusbacillus* und das *Bacter. coli com.* *Zeitschrift für Hygiene*, XII, 485.

⁸⁾ Moore: The character of the flagella on the *Bacil cholerae suis* (Salomon and Smith); *Bac. coli com.* (Escheich) and the *Bac. typhi* (Eberth). *The wilder Quarter-Century Book.* Comstack Publish CO. Ithaka N. Y.

⁹⁾ Klemensiewicz: Zur bacteriologischen Diagnose des *Bac. typhi abdom.* Mittheilung. des Vereins der Aerzte in Steiermark. 1892, 12.

¹⁰⁾ De Stöcklin: *Recherches sur la mobilité et les cils de quelques représentants du groupe des Colibacilles.* *Annales suisses des sciences médicales.* Ser. I, livraison 6, 1894.

¹¹⁾ Bunge: Ueber Geisselfärbung von Bakterien (*Fortschritte d. Medizin* 1894, 462). Zur Kenntniss der geisseltragend. Bakterien

Bunge verwendet eine Eisentanninbeize, die er aus einer mit Eisenchlorid versetzten und mit wässriger Fuchsinlösung nachgefärbten Tanninlösung herstellte. Er vermuthet, dass diese Geisselfärbung auf einer Combination der Wirkung von Ferritannatfuchsin und Tannin beruht. Man benützt am besten ganz junge, bei Typhus sogar einige Stunden alte Culturen. Ausnahmslos gelingt das Geisseldarstellungsverfahren an jungen, das heisst bis 24 Stunden alten Agarstrichculturen.

Es bedurfte einer grossen Anzahl Präparate, ehe ich in dem Bunge'schen Verfahren die nothwendige Präcision erlangte, dann aber gelangen alle Färbungen ausnahmslos und ich kann nur bestätigen, dass die verbesserte Methode mit dem Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd vortreffliche, deutliche Präparate lieferte. Erforderlich ist es, dass der spätere Zusatz von Carbolgentianaviolett etwas erwärmt wird, da sonst die Geisseln zu wenig stark hervortreten. Von 60 vorgenommenen Controlversuchen gelangen 40 übereinstimmend gut, einige nach Löffler'scher Methode gebeizte Bakterienarten lieferten nur wenige brauchbare Exemplare.

Gleich Bunge fand ich bei Coliarten bis 14 Geisseln, aber auch sehr viele lose Geisselfäden, deren Befestigungssitz am Bakterienleibe natürlich nicht mehr festzustellen war. Bunge will meist 12 Geisseln, aber auch Colibakterien mit 16 bis 20 solchen gefunden haben.

Da von der Menge der Geisseln die Schnelligkeit der Mobilität abhängt, die Angaben hierüber aber stark variiren, erweist sich diese Diagnostik als unzulässig.

Die Gährungsprobe spielt ebenfalls eine hervorragende Rolle bei der Variabilität der beiden in Betracht kommenden Bakterienarten.

Escherich¹⁾ giebt an, dass in Traubenzuckerlösung, auch ohne Luftzutritt das *Bacterium coli commune* Säurebildung und lebhafte Gasentwicklung veranlasst und ihm schlossen sich eine Anzahl Forscher an.

(Ebenda 1894, 653). Weitere Mittheilungen über Geisselfärbung (Fortschritte d. Mediz. 1894, 929).

¹⁾ Escherich: Darmbakterien des Säuglings. 1886.

Dunbar¹⁾ wie Chantemesse und Widal²⁾ nebst Anderen unternahmen ebenfalls die Methode der Vergärung des Zuckers und diesem ähnlicher Stoffe, wie Glycerin, Mannit, neben Milch-, Rohr- und Traubenzucker.

Letztere setzten einer Lösung solcher Ingredienzien (im Verhältniss von 2:1000 bis 15:100) in Bouillon noch 1- oder 2 proc. sterilisirtes Calciumcarbonat hinzu. Die eventuell durch den kohlensauren Kalk eingebrachten Luftbläschen schlossen sie durch Behandlung in Autoclaven aus und bemerkten in den bei Bruttemperatur bei Seite gestellten Coloniculturen schon nach wenigen Stunden Entwicklung von Gasblasen aus fast gleichen Mengen Kohlensäure und Wasserstoff bestehend.

In den Typhusculturen war solche nicht zu bemerken.

Dasselbe Resultat erreichten sie auch durch Verwendung von gewöhnlichem Zucker und gepulverter Kreide. Die nachgebildete Säure wurde durch häufigen Zusatz von Kalkwasser neutralisirt.

Th. Smith³⁾ hat die für die heutige Gährungsprobe wohl besonders massgebliche Methode mit dem Einhorn'schen Gährungskölbchen zuerst angewendet. Er benutzte 2 proc. traubenzuckerhaltige, schwach alkalische Bouillon.

Nach 24 Stunden war diese (bei 37° gehaltene) stark getrübt und der dritte Theil des Kölbchens in seiner geschlossenen Röhre mit Gas gefüllt, wenn er mit *Bacterium coli commune* geimpft war. Nach 3 bis 4 Tagen war die Gährung vollendet, die Flüssigkeit geklärt und das von Sauerstoff abgeschlossene Röhrchen zur Hälfte mit Gas gefüllt, das aus 2 Voluminis Wasserstoff und 1 Volumen Kohlensäure bestand. Der Typhusbacillus dagegen war nur im Stande die Gesamttlüssigkeit zu trüben und erst nach einiger Zeit wieder dadurch zu klären, dass sich die Bakterien zu Boden setzten. Auch

¹⁾ Dunbar: Zeitschrift f. Hygiene. XII.

²⁾ Chantemesse et Widal: Différenciation du bac. typhique et du bact. coli com. Sem. méd. 1891, XI, 415 u. 451.

³⁾ Th. Smith: Das Gährungskölbchen in der Bakteriologie. Centralbl. f. Bakter. und Parasitkde. VII, 1890, 502.

Milchzucker konnte vergohren werden, was beim Rohrzucker nicht der Fall war. Trauben- und Milchzucker waren sowohl bei der Impfung mit *Bacterium coli com.* als auch mit dem *Typhusbacillus* anfänglich ziemlich stark sauer, wurden aber durch letzteren später alkalisch, Rohrzucker wurde durch ihn anfangs schwach sauer, durch das *Colonbacterium* nur vorübergehend sauer.

Diese Methode, die auch Baginsky¹⁾ untersuchte, wurde von Oppenheimer²⁾ ergänzt.

Von vielen anderen Arbeiten auf diesem Gebiete wäre vielleicht noch diejenige von Germano und Maurea³⁾ erwähnenswerth. Diese legten in 2 procent. Traubenzuckeragar Sticheulturen an und bemerkten bei der Impfung mit *Bacter. col. com.* Gasbildung.

Inzwischen hat sich aber herausgestellt, dass es auch nicht gasbildende Coliarten giebt, wie z. B. Ury⁴⁾ nachwies.

Nach Dubief⁵⁾ soll auch der *Typhusbacillus* Traubenzucker, nach Rodet und Roux⁶⁾ Galaktose vergähren. Lösener⁷⁾ hat, wie er schreibt: „um festzustellen, welche Zuckerarten vom *Typhusbacillus* angegriffen werden können und welche Produkte das *Bacter. coli com.* und der *Typhusbacillus* in Zuckerlösungen bilden, beide in alkalischer Bouillon gezüchtet, welche mit 2 proc.

¹⁾ Baginsky: Zeitschrift f. Hygiene 1889, 16.

²⁾ Oppenheimer: Biologie der Milchkothbakterien des Säuglings. 62. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte zu Heidelberg. 1889.

³⁾ Germano und Maurea: Ziegler's Beiträge z. pathol. Anatom. u. allg. Patholog. Bd. XII, Heft 3. 1893.

⁴⁾ J. Ury: Ueber die Schwankungen des *Bact. coli com.* in morpholog. u. culturell. Beziehung. Inaug.-Dissert. Strassburg 1894.

⁵⁾ Dubief: Sur la biologie comparée du bacille typhique et du bacillus coli communis. Leurs actions sur les sucres. *Compt. rend. de la société de biol.* 1891, No. 28, 675 u. *Semaine méd.* 1891, XI. 424.

⁶⁾ Rodet u. Roux: Sur les rapports, qui peuvent exister entre le *bactérium coli commune* et la fièvre typhoïde. *Lyon. méd.* LXII, 1889, 563.

⁷⁾ Lösener: Arbeit. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XI, 1895, 217.

Trauben-, Milch- und Rohrzucker versetzt war, theils in Reagensgläsern, theils in Gährungskölbchen.“

„Das *Bacter. coli com.* brachte alle 3 Lösungen nach 24 Stunden (bei 37°) unter Säure- und Gasbildung energisch zur Vergährung; der *Typhusbacillus* bildete, wie ja selbstverständlich war, in den Lösungen mit den 3 genannten Zuckerarten keine Spur von Gas, rief aber in der mit Traubenzucker versetzten Bouillon starke Säuerung hervor, während er die Rohr- und Milchzuckerbouillon stärker alkalisch machte. Das Verhältniss blieb in den nächsten 14 Tagen sich vollständig gleich.

In 5 verschiedenen Versuchsreihen hat Lösener stets die gleichen Resultate erhalten. Da eine Säure- oder Gasbildung eventuell auch aus einer schon vorher in der Bouillon enthaltenen, aus dem Fleische herstammenden Zuckerart herrühren konnte, legte Lösener stets Vergleichsculturen vom *Bacter. coli com.* und dem *Typhusbacillus* in einer Bouillon derselben Zubereitung ohne Zuckerzusatz an. Eine Gasbildung konnte er dabei in den Culturen des *Bacterium coli commune* nur sehr selten und dann in sehr geringem Umfange beobachten; zuweilen trat ferner in den Culturen des *Bacter. coli com.* und des *Typhusbacillus* vorübergehend eine Säuerung ein, die dann bald durch alkalische Reaction verdeckt wurde. Durch den *Typhusbacillus* war auch in der Lactose- und Saccharosebouillon in einzelnen Fällen nach 5–6 Stunden saure Reaction bewirkt worden, welche aber alsdann in alkalische Reaction umschlug. Das beweist nur, dass der eventuelle Gehalt des Fleischwassers an einer für die betreffenden Bakterien zerlegbaren Zuckerart bei solchen Versuchen eine Rolle spielen kann, ändert aber nichts an dem Ergebniss obiger Versuche. Dass der *Typhusbacillus* Traubenzucker anzugreifen vermag, findet darin eine Erklärung, dass er auf denselben wahrscheinlich oxydirend wirkt und dann daraus durch Sauerstoffübertragung Säure bilden kann.

Es scheint sonach festzustehen, dass der *Typhusbacillus* auf Rohrzucker und jedenfalls auf Milchzucker nicht einzuwirken, dagegen Traubenzucker und Galaktose anzugreifen vermag.

Von typhusähnlichen Bakterien bilden einige in Zuckernährböden dieselben Produkte, wie der Typhusbacillus, und auch das Bacter. coli com. kann die Fähigkeit der Zuckervergähmung verlieren, sobald es durch irgend welche schädlichen Einflüsse vorübergehend geschwächt ist.“

Aus allen diesen Ausführungen ist aber doch nur zu entnehmen, dass die Gährungsprobe für die Untersuchung auf Typhusbacillen nur insofern werthvoll ist, als das Auftreten von Gasbildung zu dem Urtheil berechtigt, dass die Diagnose „Typhus“ ausgeschlossen werden kann.

In steriler Milch bewirkt der Typusbacillus nur eine geringe Säuerung, ohne infolge des Mangels an Gährungsvermögen imstande zu sein, selbst nach Monaten sie zum Gerinnen zu bringen.

Das Bacterium coli commune dagegen ruft schon in 24—48 Stunden starke Säuerung und Gerinnung der Milch, wenn es bei 37° gehalten wird, hervor.

Ueber das Verhalten des Bacter. coli com. in frischer Milch hatten Escherich¹⁾ wie auch Chantemesse und Widal²⁾ und Dunbar³⁾ bereits diesbezügliche nähere Angaben gemacht.

Löffler⁴⁾ und Blachstein⁵⁾ hatten wiederum Säurebildung durch den Typhusbacillus nachgewiesen. Doch halten sie die Mengen für zu gering, als dass diese eine Gerinnung der Milch veranlassen könnten.

Lösener⁶⁾ stellt die Thatsache, dass der Typhusbacillus in Milch, welche, wie er annimmt, von Zuckerarten nur die für den Typhusbacillus wahrscheinlich un-

¹⁾ Escherich: Darmbakter. des Säuglings. Stuttgart 1886.

²⁾ Chantemesse et Widal: Société de Biol. Par. 7. nov. 1891.

³⁾ Dunbar: Zeitschrift f. Hygiene 1892, Bd. XII, 491.

⁴⁾ Löffler: Ueber Bakterien in der Milch. Berl. klin. Wochenschrift 1887, No. 33 u. 34.

⁵⁾ Blachstein: Contribution à la biologie du bacille typhique. Arch. de sciences biol. publ. par l'inst. imp. St. Pétersbourg 1892. I. 199 u. 299.

⁶⁾ Lösener: Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1895. XI, 215.

angreifbare Laktose enthält, Säure bildet, in scheinbarem Widerspruch damit, dass der Typhusbacillus eine mit Laktose versetzte Bouillon stärker alkalisciert. Er sucht die Erklärung in einer durch die Sterilisation der Milch hervorgerufenen Veränderung der vielleicht in leichter zerlegbare Zuckerarten übergeführten Laktose.

Auch weist er auf den Factor hin, dass die meisten der in Betracht kommenden Bacterien, die Zuckerarten zerlegen können, diese zuerst und dann das Eiweiss anzugreifen pflegen. Lösener glaubt, dass bei der Sterilisation aus dem zu den Nährböden verwendeten Fleisch, das normaler Weise Glycogen enthält, Zuckerarten gebildet werden, die von den besprochenen Bakterien während der Züchtung zerlegt werden und dass von ihnen saure Produkte resultiren, während für gewöhnlich in einem Fleischwassernährboden Alkali producirt wird.

Ury¹⁾ fand übrigens bei einem *Bacterium coli commune* keine Gerinnung der Milch. Auch ist es bekannt, dass das *Bacterium coli* durch schädliche Einflüsse veranlasst, vorübergehend die Fähigkeit der Zuckervergährung verlieren kann.

Jedenfalls hat Niemand den Nachweis erbracht, dass der Typhusbacillus imstande ist, Milch gerinnen zu machen und so könnte höchstens dieser Umstand bei der Differentialdiagnose zwischen unseren beiden Bakterienarten als Hilfsmittel herangezogen werden.

Von grossem Werthe bei der Unterscheidung der besprochenen Mikroorganismen ist ferner die Indolreaction.

Poehl²⁾ hat wohl zuerst diesbezügliche Untersuchungen angestellt und den bei Säurezusatz zu Cholera-culturen sich bildenden rothen Farbstoff für Skatolderivat ausgegeben, der von Amylalkohol aufgenommen wird.

Ebenfalls hatte Brieger³⁾ das Cholerarot aus Cholera-culturen isolirt und als Indolderivat erkannt.

¹⁾ J. Ury. Inaug.-Dissert. Strassburg 1894.

²⁾ Poehl: Ueber einige biologisch-chemische Eigenschaften der Mikroorganismen im Allgemeinen und über die Bildung der Ptomaine durch die Cholera-bacillen im Speciellen. Berichte der deutsch. chemisch. Gesellschaft 1886, I, 1159.

³⁾ Brieger: Deutsche med. Wochenschrift 1887, No. 15 u. 22.

Salkowski¹⁾ schloss sich an.

Kitasato²⁾ hatte seine Forschungen auch auf die Indolreaction beim Typhusbacillus und ähnlichen Arten erstreckt und eine bestimmte Vorschrift für dieselbe angegeben. Setzt man nämlich zu 10 ccm einer Bouilloncultur 1 ccm einer 0,02 proc. Lösung von reinem Kaliumnitrit und fügt einige Tropfen einer concentrirten Schwefelsäure hinzu, so tritt bei den dem Typhusbacillus ähnlichen Bakterienarten eine Rothfärbung ein, die sogenannte Indolreaction, während diese Rothfärbung in den Typhusbacillenculturen ausbleibt.

Ich selbst konnte diese Angaben, wie ich in meiner Arbeit³⁾ ausführte, bestätigen. Die mit der Typhusbacillencultur angestellte Nitrosoindolprobe, die durch Lösung von Kaliumnitrit in Wasser in dem Verhältniss von 0,1 auf 500 gr, Vermischung von 1 ccm dieser Lösung mit 10 ccm. der zu untersuchenden Cultur und vorsichtiger Unterschichtung von einigen Tropfen reiner Schwefelsäure bewerkstelligt wurde, ergab insofern ein negatives Resultat, als die Berührungsstelle der Flüssigkeiten ungefärbt blieb, während bei einem Controllversuch, der auf dieselbe Art mit einer *Bacterium coli* Bouillon unternommen wurde, an der Berührungsstelle sehr bald die rothviolette Färbung sich einstellte.

Nicht unerwähnt will ich lassen, dass die von mir hergestellte Bouillon aus einer Lösung von 10,0 Pepton 5,0 Chlornatrium in 1000,0 Wasser bestand und dass das benützte Pepton von Witte aus Rostock bezogen war. Dieses Pepton ist ein reines, ziemlich stark alkalisches Präparat, ein Umstand, der nicht unwesentlich in Betracht fällt.

¹⁾ Salkowski: Ueber das Choleraroth und das Zustandekommen der Cholerareaction. Virchow's Archiv 1887, CX, 366.

²⁾ Kitasato: Die negative Indolreaction der Typhusbacillen im Gegensatz zu anderen ähnlichen Bakterienarten. Zeitschrift f. Hygiene. Bd. VII, 1889, 518.

³⁾ Piorkowski: Ueber die Einwanderung des Typhusbacillus in das Hühnerei. Archiv f. Hygiene. Bd. XXV, Hft. 2, 149.

Auch Petri¹⁾ will ein gewisses Verhältniss zwischen Indol und Nitrit gesichert wissen und nach Péré²⁾ soll die Anwesenheit von Pepton oder von Eiweis in Begleitung von Fermenten, welche dieses in Pepton zu verwandeln vermögen, durchaus erforderlich sein.

Dagegen stellten Dunbar³⁾ und Baginsky⁴⁾ die Indolreaction in Abrede und wenn es auch wahrscheinlich ist, dass diese Beiden bei den Untersuchungen, die sie anstellten, andere Bakterienarten hatten, die sie der verschiedenen, verwandten Beziehungen wegen für das *Bacter. coli commune* hielten, so giebt dieser Befund, schon in Anbetracht des Ansehens, welches besagte Forscher genossen, doch immer zu Bedenken Anlass und man kann hier also wiederum durch einen positiven Ausfall der Indolreaction nur auf die Nichtanwesenheit von *Typhusbacillen* schliessen.

Die Cultur auf der Schnittfläche gekochter Kartoffeln ist ein einigermassen charakteristisches Unterscheidungsmerkmal.

Das Verdienst, dieses Characteristicum für die Diagnoseverwerthbar gemacht zu haben, gebührt Gaffky⁵⁾.

Gaffky schreibt: Die mit *Typhusbacillen* inficirten Kartoffelflächen lassen „im Laufe der folgenden Tage für das blosse Auge nur sehr geringe Veränderungen erkennen. Die besäten Flächen scheinen wohl ein etwas gleichmässigeres und feuchteres Aussehen anzunehmen; doch sieht man makroskopisch von einem Wachsthum nichts. Versucht man aber — etwa nach 48 Stunden — mit der Platinnadel von der Oberfläche eine geringe Menge zur mikroskopischen Untersuchung zu entnehmen,

¹⁾ Petri: Ueber die Verwerthung der rothen Salpetrigsäure-Indolreaction zur Erkennung der Cholera Bakterien. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. VI, 1, 1890.

²⁾ Péré: Contribution à la biologie du bactérium coli commune et du bacille typhique. Annales de l'institut Pasteur. 1892. VI, No. 7.

³⁾ W. Dunbar: Zeitschrift f. Hygiene 1892, XII.

⁴⁾ Baginsky: Ueber Cholera infantum. Berlin. klin. Wochenschrift 1889, XXVI, 996.

⁵⁾ Gaffky: Mittheilungen a. d. kaiserl. Gosundheitsamte. II, 1884, 388. (Zur Aetiologie des Abdominaltyphus.)

so erhält man den Eindruck, als ob die ganze Fläche in eine zusammenhängende, resistenter Haut verwandelt wäre, ohne dass sich von Eintrocknung auch nur eine Spur wahrnehmen liesse. Von welcher Stelle der Oberfläche man aber auch ein minimales Kartoffelstückchen entnehmen mag, überall, auch an den nicht besäeten Partien, findet man bei der mikroskopischen Untersuchung in ganz überraschenden Mengen die verimpften Bacillen, meist von der gewöhnlichen Länge, zum Theil aber auch in Form längerer Scheinfäden. Die ganze Oberfläche scheint fast nur aus den Bacillen zu bestehen.“

Bacillus coli communis dagegen bildet in wenigen Tagen einen 3—4 mm dicken, saftig glänzenden Belag, der nach dem Alter und der Beschaffenheit der Kartoffeln wechselt.

Escherich¹⁾ fand, dass letzteres auf alten, lange gelagerten Kartoffeln gar nicht oder nur spärlich wächst in der Form einer unscheinbaren, weissen Kolonie.

E. Fränkel und Simmonds²⁾ konnten ein sichtbares Wachsthum der Typhusbacillen auch auf alkalischen Kartoffelnährböden wahrnehmen.

Ali Cohen³⁾ welcher zwischen dem Wachsthum im Centrum und der Ausbreitung über die ganze Fläche der sichtbaren oder unsichtbaren Colonie unterscheidet, führt atypisches Wachsthum an.

Schiller⁴⁾, Eisenberg⁵⁾ und Hildebrandt⁶⁾ wiesen atypisches Wachsthum auf alkalisch gemachten Kartoffelnährböden ebenfalls nach, während Jäger⁷⁾

¹⁾ Escherich: Die Darmbakterien des Säuglings und ihre Beziehungen zur Physiologie der Verdauung. Stuttgart 1886.

²⁾ E. Fränkel und Simmonds: Die ätiologische Bedeutung des Typhusbacillus. Hamburg 1886.

³⁾ Ali Cohen: De Typhus Bac. Een experimenteel en krit. onderzoek. Groningen 1888.

⁴⁾ Schiller: Beitrag zum Wachsthum der Typhusbacillen auf Kartoffeln. Arbeit a. d. kaiserl. Gesundheits-Amte. V. 312.

⁵⁾ Eisenberg: Bakteriologische Diagnostik. 1891.

⁶⁾ Hildebrandt: Zur Kasuistik des placentaren Uebergangs der Typhusbacillen von Mutter auf Kind. Fortschritte d. Medic. VII. No. 23.

⁷⁾ Jäger: Zur Kenntniss der Verbreitung des Typhus durch Contagium und Nutzwasser. Zeitschr. f. Hygiene. X. 197. 1891.

dieses (atypische Wachsthum) den verschiedenen Keimungsperioden der Kartoffel zuschreibt.

Nach Ferrati¹⁾ ergab die Prüfung der Kartoffelcultur bei Ansäuerung der Kartoffelscheiben ein deutlicheres Erkennungszeichen.

Germano und Maurea²⁾ konnten weder auf sauren, aus Neapel, Massana, Berlin und Marburg stammenden Kartoffeln bei 20⁰ oder 37⁰, noch auf Kartoffeln, welche in den verschiedensten Jahreszeiten gewachsen waren, jemals ein typisches Wachsthum beobachten.

Belfanti³⁾ hält das sogenannte charakteristische Wachsthum nur für ein Zeichen geringer Entwicklungskraft, bedingt durch den Säuregehalt, niedrige Temperatur etc.

So erhielt er mit Culturen, die bei Bruttemperatur einen lackartigen Ueberzug aufwiesen, bei Zimmer- oder noch niedrigerer Temperatur auf Kartoffeln, die auf gleiche Art vorbereitet waren, glänzendes, farbloses, charakteristisches Aussehen.

Ein von Karlinski⁴⁾ im Kothe gefundener Bacillus, welcher dem Typhusbacillus sehr ähnlich sah, soll sich nur durch sein merkwürdiges Wachsthum auf angesäuerten Kartoffelscheiben unterscheiden, auf denen er einen bläulich weissen Rasen zieht.

Dieses Verhalten auf angesäuerten Kartoffeln schien für Babes⁵⁾ nicht genügend beweisend, da die Art der Kartoffel und besonders der Feuchtigkeitsgrad derselben für die charakteristische Cultur auch noch in Betracht kommen.

1) E. Ferrati: Zur Unterscheidg. des Typhusbacillus vom Bacter. coli commun. Archiv f. Hyg. XVI. I. 1893.

2) Germano u. Maurea: Ziegler's Beiträge z. patholog. Anatom. XII. 1893.

3) Belfanti (Sulla infezione tifosa. Riv. it. gen. di clin. med. 1890. 230.)

4) Karlinski: Centralbl. f. Bakt. u. Parasit. III, 1889, No. 3. Untersuchungen über das Verhalten der Typhusbacillen in typhösen Dejectionen.

5) V. Babes: Ueber Variabilität und Varietät des Typhusbacillus. Zeitschrift f. Hygiene 1890, IX.

Arloing¹⁾ sah alte Bouillonculturen von *Bacterium coli commune* auf Kartoffelscheiben ebenfalls in der dem Typhusbacillus typischen Weise wachsen.

Ich selbst hatte während eines bakteriologischen Kurses des Herrn Prof. Dr. Hauser ebenfalls Gelegenheit, mich zu überzeugen, dass ein grosser Theil der angelegten Kartoffelculturen atypisch gewachsen war.

Auf derartige Erfahrungen basirend hatte Holz²⁾ aus Gelatine und dem ausgepressten und filtrirten Saft zerriebener, roher Kartoffeln ($\frac{1}{2}$ Kilogr. auf 1 Liter Wasser) sich eine „Kartoffelgelatine“ bereitet und ihr durch Zusatz von Normal-Natronlauge einen derartigen Säuregrad gegeben, dass 10 cubikcent. dazu gehören, 2,4 bis 3,2 cem. $\frac{1}{10}$ Normal-Alkali zu saturieren. Die durch den Typhusbacillus erzielten Oberflächenansiedlungen sollen klarer und durchsichtig sein, doch kommt nach Jäger³⁾ gleiches Wachsthum auch bei typhusähnlichen Bakterien vor.

Auch nach Babes⁴⁾ zeigte das Wachsthum auf Kartoffelgelatine keine wesentlichen Unterschiede zwischen Typhusbacillus, seiner Varietät und ähnlichen Bacillen.

Uebrigens hatte auch Wood Kartoffeln in durchscheinender Form angewendet, indem er derartige weisse Scheiben fest auf Glasstreifen drückte und sie nach Einbringung in Reagensgläser in Autoclaven sterilisirte.

Demnach wäre also auch die Kartoffelcultur keine durchaus entscheidende Differenzirungsmethode und käme höchstens in Betracht bei typischer Uebereinstimmung aller übrigen biologischen und morphologischen Merkmale.

Was im Uebrigen noch für die diagnostische Verwerthbarkeit durch Formenbestimmungen, durch Herstellung von allerhand Nährböden, durch procentuale Gasmessungen, Reactionsprüfungen, Alkalescenzen- und Säurebestimmungen etc. geleistet und geschrieben worden ist, ist weniger von

¹⁾ Arloing: Centralbl. f. Bacter. Bd. XI, 120. 1892.

²⁾ M. Holz: Experimentelle Untersuchungen über den Nachweis der Typhusbacillen. Zeitschrift f. Hygiene, VIII, 143.

³⁾ Jäger: Zeitschrift f. Hygiene, X, 127.

⁴⁾ V. Babes: Zeitschrift f. Hygiene, IX, 1890.

Belang, da alle diese Ausführungen bald schwankende, bald unbrauchbare Resultate lieferten.

Ich möchte sie darum nur in Kürze abhandeln als interessante Beigabe für den Forschungseifer auf diesen Gebieten.

So wurde zum Beispiel eine Differenzirung auf Grund morphologischer Beobachtungen versucht.

Von Lyon aus hatte sich die Ansicht geltend gemacht, dass morphologisch, biologisch und in Bezug auf pathogene Wirksamkeit kein Unterschied zwischen den beiden besprochenen Bakterien bestände. Arloing¹⁾ und Rodet und Roux²⁾ hatten bei verschiedenen Typhus-epidemien das Wasser verdächtiger Brunnen untersucht, stets das *Bacterium coli commune*, nie dagegen den Eberth'schen *Bacillus* gefunden, wesswegen sie zu der Vermuthung kamen, dass diese beiden eng verwandt wären mit einander.

Beide sollten derselben Art zugerechnet werden und nur 2 Varietäten vorstellen, die durch Zwischenstufen mit einander verbunden sind.

Vornehmlich der menschliche Körper sollte geeignet sein, das *Colonbacterium* in den *Typhusbacillus* umzuwandeln.

Ferner sollte ersteres längere Zeit bei 45° gehalten oder auf 80° erhitzt oder auch von älteren Culturen stammend, dem *Bacillus Eberth* in der Form gleichen; durch Züchtung sollte es eine oder einige seiner Variabilitäten verlieren, die Beweglichkeit würde durch Passieren eines Thierkörpers erhöht u. A. mehr. Auch H. Buchner³⁾, E. Malvoz⁴⁾ und Chéron⁵⁾ glauben an eine eventuelle Identität der beiden Spaltpilze.

¹⁾ Arloing: Rapports du bacillus coli communis avec le bacille d'Eberth et l'étiologie de la fièvre typhoïde. Lyon. méd. 1881, LXVIII.

²⁾ Rodet et Roux: Identité du bacille d'Eberth et du bactér. col. commun. Lyon. méd. 1891, LXVIII.

³⁾ H. Buchner: Ref. Münch. med. Wochenschrift. 1891, XXXVIII.

⁴⁾ E. Malvoz: Le bactérium coli commune comme agent habituel des péritonites d'origine intestinale. Arch. de méd. expér. et d'anat. path. 1891, III, 599.

⁵⁾ Le bacterium coli commune. Union méd. 1893, No. 33.

Klebs¹⁾, Eberth²⁾ und Koch³⁾ wehrten sich gegen diese Ansichten, nachdem sie eine Zeit lang diesbezügliche Untersuchungen angestellt hatten. Chantemesse und Widal⁴⁾ verfahren noch präziser und setzten bestimmte Kennzeichen für den Typhusbacillus fest.

Auch Babes⁵⁾ gelangt zu dem Schluss, dass er wohl mitunter die Wahrnehmung machen konnte, dass manche der untersuchten Bakterienarten die Tendenz zeigten, unterschiedliche Merkmale zu verlieren, dass er aber niemals im Stande war, eine der Varietäten umzuzüchten. So sehen wir auch hierbei die Meinungen entgegengesetzt.

Für die Gelatineoberflächencultur, auf die ich übrigens weiter hinten in meiner Arbeit noch zurückkomme, gilt der Allgemeinbefund, dass beide Mikroben nicht peptonisirende Bakterien sind, die Gelatine also nicht verflüssigen und ihre Colonien anisodiametrisch entwickeln.

Werner Rosenthal⁶⁾ machte Versuche mit Nährböden von verschiedenem Procentgehalt an Gelatine, die er aber nicht völlig abgeschlossen hatte.

Klie⁷⁾ kam in seinen diesbezüglichen Versuchen zu dem Ergebniss, dass sich mitunter in, in 10 proc. Gelatine verimpften Coli- und Typhusculturen variable Formen der Colonien bei höherer Temperatur einstellen, die bei niedrigerer Temperatur und minderprocentiger Gelatine noch markanter werden. Doch hält er dieses Verfahren für die Differentialdiagnose keinesfalls für geeignet, da beide Bakterien Formenübergänge aufweisen.

¹⁾ Klebs: Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakolog. 1880/81. XII, XIII, XV.

²⁾ Eberth: Die Organismen in den Organen bei Typhus abdom. und: Neue Untersuchungen über den Bacillus des Abdominaltyphus. Virchow's Archiv. 1880/81, 83.

³⁾ R. Koch: Arbeit a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. I, 1881.

⁴⁾ Chantemesse et Widal: Archives de Physiolog. I, 87.

⁵⁾ V. Babes: Ctrbl. f. Bakteriolog. u. Parasitkde. VIII, 1890.

⁶⁾ W. Rosenthal: Beobachtungen über d. Variabilität der Bakterienverbände und der Colonieformen unter verschiedenen physikalischen Bedingungen. Deutsch. Archiv für klinische Mediz. LV, 1895.

⁷⁾ Johannes Klie: Inaugural-Dissertat. Erlangen 1896.

Erfolglos waren Zusätze von a) Naphthol, die Rawitsch - Stecherba¹⁾ und von Carbolsäure, die Chantemesse und Widal²⁾ und Kruse³⁾ unternahmen, um verflüssigende Keime auszuschalten. Holz⁴⁾ machte einen 0,05 proc. Carbolsäurezusatz zu einer Kartoffelgelatine. Die Methode von Parietti⁵⁾ besteht in einem Zusatz von Carbol- und Salzsäure zur Bouillon. Auf dieser sollen typhusähnliche Bakterien an der Entwicklung gehindert werden.

Dunbar⁶⁾ verfuhr ähnlich, Vincent⁷⁾ füllte Peptonbouillon in Reagensgläser und setzte ihnen 5 Tropfen einer 5 proc. Phenollösung hinzu, die er dann bei 42°, nachdem das zu untersuchende Wasser hinzugekommen war, bei Seite stellte. Schliesslich fand er aber selbst, dass seine Art, fremde Mikroorganismen abzutöten und nur den Typhusbacillus aufkommen zu lassen, eine verfehlte war. Thoinot⁸⁾ empfahl einen bestimmten Phenolzusatz direkt zu dem zu untersuchenden Wasser, aber die Platten wurden schnell verflüssigt.

Nichts von alledem bewährte sich.

Ebensowenig die Anwendung einer Jodtrichloridgelatine von Riedel⁹⁾

1) Rawitsch - Stecherba: Zur Frage des Nachweises der Typhusbakterien in Wasser und Fäces. *Wojanno med. J.* 1892, IV.

2) Chantemesse et Widal: *Gazette des hopitaux.* 1887, 202.

3) Kruse: Kritische und experimentelle Beiträge zur hygien. Beurtheilung des Wassers. *Zeitschr. f. Hygiene*, XVII, I.

4) Holz: *Zeitschrift f. Hygiene*, VIII, 159. 1890.

5) Parietti: Metodo di ricerca del Bacillo del tifo nelle aqua potabili. *Rivista d'igiene e sanità publica.* 1890, No. 11.

6) Dunbar: Untersuchungen über den Typhusbacillus und d. *Bact. coli com.* *Zeitschrift f. Hygiene* XII, 1892.

7) H. Vincent: Présence du bacille typhique dans l'eau de Seine pendant le mois de juillet 1890. *Ann. de l'Institut. Pasteur* 1890, IV.

8) Thoinot: Sur la présence du bacille de la fièvre typhoïde dans l'eau de la Seine à Ivry. *Sem. méd.* 1887, VII u. *Gazette des hopit.* 1887, 348.

9) Riedel: Versuche über die desinficiierenden und antiseptischen Eigenschaften des Jodtrichlorids. *Arbeit a. d. kaiserl. Gesundheitsamte.* II, 466, 1887.

Auf, mit Formalin versetzten Nährboden ist Schild¹⁾ verfallen, auf welchem das *Bacterium coli commune* eine grössere Widerstandsfähigkeit besitzen soll, als der *Typhusbacillus*.

Schild²⁾ wird in dieser Angabe von Abel unterstützt.

Eiweissfreie Nährboden, wie sie Nägeli³⁾, Uchinsky⁴⁾, C. Fränkel⁵⁾ und Maassen⁶⁾ componirten (letzterer stellte eine Normallösung aus Asparagin, Apfelsäure etc. her mit 1–4 pCt. Glycerinzusatz, wodurch der *Typhusbacillus* gänzlich am Aufkommen gehindert wurde), konnten wenigstens insofern einen Anspruch auf Erfolg machen, als ihre Substrate das Wachsthum des *Typhusbacillus* etwas einschränkten.

Kaufmann⁷⁾ gewann eine Jequiritylösung, indem er entschälten Jequiritysamen mit Wasser 2 Stunden im Dampftopf hielt und vom Niederschlage abfiltrirte.

Das *Bacterium coli commune* sollte entfärbend wirken, während der *Typhusbacillus* einen Stich ins Grünliche hervorrief.

Daválos⁸⁾ benutzte die von Sternberg angegebene Kokosmilch zur Beobachtung des Wachsthums.

¹⁾ Schild: Zeitschr. f. Hygiene und Infectionskrankheiten. XVI, 1894.

²⁾ Abel: Ueber die Brauchbarkeit der von Schild angegebenen Formalinprobe zur Differentialdiagnose des *Typhusbacillus*. Centralbl. f. Bakter. u. Parasitk. XVI, 1894, 1041.

³⁾ v. Nägeli: Untersuchungen über niedere Pflanzen. München. 1882, I.

⁴⁾ Uchinsky: Ueber eine eiweissfreie Nährlösung für pathogene Bakter. etc. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitk. XIV, 316.

⁵⁾ C. Fränkel: Beiträge zur Kenntniss des Bakterienwachsthums auf eiweissfreien Nährlösungen. Hygien. Rdschau. 1894, 769.

⁶⁾ Maassen: Beiträge zur Differenzirg. einiger dem *Vibrio* der asiat. Cholera verwandten Bakterienarten u. kurze Angaben über eiweissfreie Nährböd. von allgemeiner Anwendbarkeit. Arbeit a. d. kais. Gesundheitsamte. IX, 403.

⁷⁾ Kaufmann: Ueber einen neuen Nährboden für Bakterien. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitk. X, 65, 1891.

⁸⁾ Daválos: Contribución al estudio del agua de coco como medio de cultivo de diferentes gérmes patógenos. Cronica médica-quirúrgica de la Habana. 1892, No. 11.

Nach ihm sollen die Menge und Form des Bodensatzes, der Trübung der Milch für die Unterscheidung massgebend sein.

Belanglos bleibt der Lyonnet¹⁾sche Vorschlag, eine mit Thierkohle entfärbte Bouillon mit 2 ‰ Carbonsäure, 20 ‰ Laktose und etwas Kongoroth zu versetzen und in diese Mischung die zu untersuchenden Proben einzuführen.

Abgenutzte Nährböden dienten gleichfalls der Auseinanderhaltung von *Bacterium coli commune* und *Typhusbacillus*. Chantemesse und Widal²⁾ bedienten sich alter, abgetöteter Typhusculturen, auf denen das *Colonbacterium* üppig gedeiht, welche Eigenschaft dem *Typhusbacillus* abgeht.

Aber Germano und Maurea³⁾ hatten auch bei typhusähnlichen Bakterien dasselbe Verhalten, wie es der *Typhusbacillus* zeigt, nachgewiesen.

Nach letzteren Forschern hatte auch das von Silvestrini⁴⁾ vorgeschlagene Auskunftsmittel, Kaninchenblut zu verwenden, in welchem der *Typhusbacillus* bald abstirbt, nicht angeschlagen.

Dem Silvestrinischen Verfahren ähnlich ist das von Vaughan,⁵⁾ der Thiere impfte und nach deren event. Tode verschiedene Organe nach den Bacillen durchsuchte, ebenso jenes von Denayer⁶⁾, der Thiere subcutan impfte.

Zersetzung des Amygdalins durch diese Bakterien

1) Lyonnet: D'un milieu de culture propre à isoler et diagnostiquer rapidement le bacille typhique. Cit. nach Sem. médic. 1894, 499.

2) Chantemesse et Widal: Différentiation du bacille typhique et du *bacterium coli commune*. Sem. médic. 1891, 415 u. 451.

3) Germano u. Maurea: Ziegler's Beiträge zur pathol. Anatom. 1893, XII.

4) Silvestrini: Studi batteriologici sulle urine dei tífosi. Riv. gen. ital. di clin. med. 1892, IV, 6.

5) V. Vaughan: A bacteriological study of drinking water. Americ. journ. of the med. scienc. 1892. August. II, 969.

6) Denayer: Centralbl. f. Bakt. etc, VII, 618.

will Inghilleri¹⁾ in amygdalinhaltiger Bouillon bemerkt haben.

Lewandowski²⁾ prüfte den *Bacillus Neapolitanus*, dessen Identität mit dem *Bacterium coli commune* ja jetzt zweifellos ist, auf die Fähigkeit hin, Phenol zu zu bilden, indem er annahm, dass die Bakterien, welche auf eiweisshaltigen Nährböden Indol zu erzeugen imstande sind, auch ersteres zu produciren vermögen. Jedoch fiel der Versuch ergebnisslos aus. Dagegen glückte es Lösener³⁾ aus Bouillonculturen des *Colonbacterium*, durch Destillation mit verdünnter Schwefelsäure, mittelst Bromwassers in den ersten Fraktionen des Destillates Tribromphenol, also Phenol als gelblichen, flockigen Niederschlag nachzuweisen.

Das Kapitel des „Verhaltens gegen Farbstoffe“ nimmt wieder einen grösseren Raum in der Geschichte der Unterscheidungsmerkmale unserer beiden Bakterien ein.

In ihm glaubte man gleichfalls ein Mittel zur Diagnosticirung gefunden zu haben. Aber beide Arten sind für Anilinfarben empfänglich, beide lehnen die Gram'sche Färbung ab und nur ein auf Butteragar gezüchtetes, oder aus fettreichen Stühlen stammendes *Bacterium coli commune* macht nach Schmidt⁴⁾ hiervon eine Ausnahme, indem dieses nach Behandlung mit Genvianaviolett, Gram'scher Entfärbung und schwacher Nachfärbung mit Fuchsinlösung, blau, andere Bacillen, ebenso behandelt aber roth werden.

Gasser⁵⁾ giebt eine Methode an, laut welcher Agar, mit einigen Tropfen einer wässerigen Fuchsinlösung gefärbt, sich in frischem Zustande von *Bact. coli*

¹⁾ Inghilleri: Ueber die verschied. Verhältnisse des *Bact. coli com.* und des *Typhusbacillus* in amygdalinhaltiger Bouillon. Centralbl. f. Bakt. etc. XV, 281.

²⁾ Lewandowski: Ueber Indol- u. Phenolbildg. durch Bakterien. Deutsch. med. Wochenschr. XVI, 1186.

³⁾ Lösener: Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. XI, 1895, 219.

⁴⁾ Schmidt: Zur Kenntniss der Bakterien der Säuglingsfäces. Wiener klin. Wochenschr. 1892, V, 643.

⁵⁾ Gasser: Sur un nouveau procédé de diagnostic différentiel du bacille d'Eberth. La Semaine médic. 1890, Nr. 31.

comm. rasch entfärben lässt, vom Typhusbacillus dagegen nicht.

Luksch¹⁾ controllirte diese Methode, die ihm aber keine Regelmässigkeit der Versuche garantierte. Namentlich bei älteren Agarsorten kommt es vor, dass auch der Typhusbacillus, obgleich langsamer, entfärbt wurde. Er glaubt, „dass ein vom chemischen Standpunkte aus so mannigfach und wechselnd zusammengesetztes Gemenge, wie es der Agarnährboden ist, schon durch chemische Umsetzungen auf Farbstoffe wirken könnte.“

Marpmann²⁾ hatte sich eine Phloxinrothgelatine hergestellt, in der die Typhuskolonien dunkelrothe Punkte bildeten, was Kitasato³⁾ nicht constatiren konnte.

Später hat Marpmann⁴⁾ eine Vorschrift zu Malachitgrün-Sulfitagar angegeben, auf dem *Bacterium coli commune* schon nach einigen Tagen als weissgrauer Belag erscheinen sollte, während der Typhusbacillus die dunkelgrüne Farbe des Malachitgrüns annahm.

Aehnlich sollte sich das Wachsthum auf mit Indolin oder Nigrosin versetzten Nährböden gestalten, auf denen der Typhusbacillus erst nach längerer Zeit als weisslich grauer Belag zu erkennen ist, *Bacterium coli commune* dagegen schon nach einigen Tagen einen dicken weissen Schleim bildet.

Auch diese beiden Methoden habe ich während einiger Wochen geprüft. Stellt schon die Bereitung des Malachitnährbodens, dessen Entfärbung durch Natriumsulfit durchaus inconstante und schwankende Mengen des letzteren beanspruchen und also zum mindesten unpraktisch ist, einige Schwierigkeiten dar, so ist das Resultat dementsprechend durchaus variabel.

¹⁾ Luksch. Ctrbl. f. Bakt. etc. XII. 1892.

²⁾ Marpmann. Die mikroskop. Wasseruntersuchung. Arch. pharm. 1888. LXVII. 682.

³⁾ Kitasato. Die negative Indolreaktion der Typhusbacillen im Gegensatz zu anderen ähnlichen Bakterienarten. Ztschrift. f. Hygiene 1889. VII. 515.

⁴⁾ Marpmann. Ctrbl. f. Bakter. etc. 1895. I.

Endlich werden auch die Methoden von Nöggerath¹⁾ und Uffelmann²⁾ von Holz³⁾, Grancher und Deschampes⁴⁾, Dunbar⁵⁾ etc. als unzuverlässig hingestellt.

Auch die Bildung von Alkali und Säure wird etwas eingehender behandelt. Sie ist eigentlich enger verknüpft mit dem Gährungsvermögen der Bakterien und ich bin darum zum Theil schon bei der Gährungsprobe auf sie zu sprechen gekommen; hier will ich nur einige Methoden anführen, die sich nicht für das Unterscheidungsvermögen die Stellung wie jene erobern konnten.

H. Buchner⁶⁾, demzufolge in Rohr-, Milch- oder Traubenzucker, die in verschiedenen Mengen zu Peptonfleischextractlösungen zugesetzt werden, Gas- und Säurebildung von dem Colonbacterium verursacht wird, giebt eine Methode an, nach der Lackmustinctur zu der Nährlösung hinzugefügt wird, wodurch er die Säurebildung charakterisirte. Er beweist ferner, dass starke Säurebildung und starke Gährung gleichmässig eintreten und kommt zu dem Resultat, dass die Anwesenheit von Zucker sowohl die Gährung bedingte, wie auch bei dem Gährungsprocess in Kohlensäure und in Fettsäuren gespalten werde.

Weisser⁷⁾ Neisser⁸⁾ Löffler⁹⁾ und andere stellten ähnliche Versuche an.

¹⁾ Nöggerath. Centrbl. f. Bakter. etc. Bd. III. 1888. 481.

²⁾ Uffelmann. Berl. klin. Wochenschr. 1891. No. 35 u. Centrbl. f. Bakt. etc. XV. 1894. 133.

³⁾ Holz. Centrbl. f. Bakt. IX. 1891. 293.

⁴⁾ Grancher u. Deschampes. Centrbl. f. Bakter. V. 1889. 830.

⁵⁾ Dunbar. Ztschrft. f. Hygiene. XII. 485.

⁶⁾ H. Buchner. Beiträge zur Kenntniss des Neapler Cholerabacillus und einiger demselben nahestehender Spaltpilze. Arch. f. Hygiene. III. 1885.

⁷⁾ Weisser: Ueber die Emmerich'schen sogen. Neapler Cholerabakt. Zeitschr. f. Hyg. I, 1886, 315.

⁸⁾ Neisser: Untersuchungen über den Typhusbacillus und das Bact. coli com. Zeitschr. f. klin. Medicin. 1893, 93.

⁹⁾ Löffler: Ueber Bakter. in der Milch. Berl. klin. Wochenschr. 1887, No. 33.

Petruschky¹⁾ stellt fest, dass die Bildung von Säure und Alkali, welche Rötung, beziehungsweise Bläunung zur Folge hat, in der Farbe, die Reductionswirkung, die sehr vielen Bakterien eigen ist und Entfärbung des Lackmus herbeiführt und die oxydirende Wirkung der den meisten Bakterien unentbehrlichen atmosphärischen Luft, welche die verschwundene Farbe allmählig wieder herstellt auf die Lackmusfarbe einwirken. Er schlägt darum eine Lackmusmolke vor, worin *Bacterium coli com.* säurebildend auftritt und zu seiner Neutralisirung 7—8, in einem Falle sogar 12 Volumprocente $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge bedurfte, während der *Typhusbacillus* sehr geringe Mengen Säure bildet, nämlich 2—3 pCt.

Die Säurebildung erhielt er auch in zuckerfreier Bouillon, wie in peptonfreiem Milchserum, sie konnte also sowohl des Peptons, wie des Zuckers entbehren.

Wurtz²⁾ verfuhr ähnlich. Er bediente sich fester Nährböden, die mit Lactose versetzt und gleichfalls durch Zusatz von Lackmus blau gefärbt waren. Auch hier war bei den Coliculturen ein Uebergang der Farbe von blau in roth zu bemerken.

Germano und Maurea³⁾ bestimmten die Menge des gebildeten Alkali's in Typhusbouillonculturen, constatirten aber grosse Abweichungen unter den verwendeten Typhusculturen verschiedener Herkunft.

Sommaruga⁴⁾ schlägt Fleischwassernährböden mit 5 pCt. Glycerin vor, um die Säureprodukte der Bakterien zu bestimmen. Aber die Resultate gaben eine solch annähernden Procentgehalt, dass diese Methode belanglos wurde.

So erging es auch den sonst noch aufgetauchten Prüfungen des Reductionsvermögens. Sommaruga gebrauchte hier an Stelle der Lackmustinctur Rosolsäure.

¹⁾ Petruschky: Bakterio-chemische Untersuchungen. Centralbl. f. Bakter. etc, VI, 1889, 625.

²⁾ Wurtz: Sem. méd. 1891 u. Arch. de méd. exp. et d'anat. path. 1892.

³⁾ Germano u. Maurea: Ziegler's Beiträge XII.

⁴⁾ v. Sommaruga: Ueber Stoffwechselproducte v. Bakterien. Zeitschrift f. Hygiene. XII, 273 u. XV, 291.

Das Colonbacterium entfärbte Bouillon, welche mit dieser letzteren versetzt war innerhalb 24 Stunden, indem sich Leukorosolsäure bildete.

Germano und Maurea arbeiteten mit $\frac{1}{2} \text{ ‰}$ indig. schwefelsaurem Natronagar.

Lösener¹⁾, der beide Vorschriften untersuchte, konnte den Angaben beider Forscher nicht beipflichten.

Ali Cohen²⁾ brachte Kapillarröhrchen mit rohem Kartoffelsaft in verunreinigtes Wasser, verdünnten Koth etc., wodurch eine Anlockung der schneller beweglichen Typhusbacillen erfolgen sollte. Jedoch auch dieser chemotaktische Versuch missglückte, denn neben dem Typhusbacillus sind auch andre Bakterien nachgewiesen worden.

Ueber Kohlensäureentwicklung wurde namentlich von Hesse³⁾ und Weyland⁴⁾ gearbeitet. Aber auch hier sind die Ergebnisse in Folge der unbedeutenden Unterschiede in den beiderseitigen Procentzahlen, unwesentlich.

Ueber Schwefelwasserstoffbildung handeln Ausführungen von Fromme⁵⁾, Stagnitta-Balistreri⁶⁾, Rubner⁷⁾, Zörkendörfer⁸⁾ u. s. w.

Orlowski⁹⁾ wollte auch hier Unterschiede entdeckt haben, doch erweisen die Controllversuche Löseners,¹⁰⁾

¹⁾ Lösener: Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. XI, 220.

²⁾ Ali Cohen: Die Chemotaxis als Hilfsmittel der bacteriologischen Forschung. Centralbl. f. Bakt. etc. 1890, VIII, 161.

³⁾ Hesse: Ueber die gasförmigen Stoffwechselprodukte beim Wachstum der Bakterien. Zeitschr. f. Hygiene. XV, 17.

⁴⁾ Weyland: Zur Differenzirung der Typhusbacillen von typhusähnlichen Bakterien. Arch. f. Hygiene XIV, 374.

⁵⁾ Fromme: Ueber die Beziehungen des metallischen Eisens zu den Bakterien etc. Dissertat. Marburg 1891.

⁶⁾ Stagnitta-Balistreri: Die Verbreitung der Schwefelwasserstoffbildung unter den Bakter. Arch. f. Hyg. XVI, 10.

⁷⁾ Rubner: Ueber den Modus der Schwefelwasserstoffbildung bei Bakter. Arch. f. Hyg. XVI, 53. Die Wanderungen des Schwefels im Stoffwechsel d. Bakter. Arch. f. Hyg. XVI, 78. Ueber das Vorkommen von Mercaptan. Arch. f. Hyg. XIX, 136.

⁸⁾ Zörkendörfer: Ueber die im Hühnerei vorkommenden Bakter. etc. Arch. f. Hyg. XVI, 369.

⁹⁾ Orlowski: Sur quelques bactéries, qui dégagent de l'hydrogène sulfurée. Wratsch. 1893, No. 48.

¹⁰⁾ Lösener: Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. XI, 224.

dass sich aus den Orłowski'schen Versuchen keine Vortheile für die Differentialdiagnose ergeben.

Die von Chantemesse¹⁾ angeführte Skatolprobe liess sich nicht bestätigen.

Zweifelhaft blieb auch die von Zinno²⁾ angegebene Kreatininreaktion. Dieser benutzte eine Lösung von 2 pCt. Pankreaspepton, der er 0,5 pCt. Chlornatrium zusetzte.

Die Kreatininreaktion sollte eintreten, wenn er zu der mit *Bacter. coli commun.* geimpften Bouillon einige Tropfen Natriumcarbonatlösung und wenige Tropfen Nitroprussidnatriumlösung hinzusetzte, indem sich die Bouillon intensiv roth färbte, um später gelb zu werden.

Bei Essigsäurezusatz bilden sich anfangs smaragdgrüne, später blaue Farbennuancen.

Ammoniak liess keine Reaction aufkommen.

Alle diese Merkmale blieben bei den Typhusbacillen aus. Kreatinin wies Zinno durch die Neubauer'sche Methode der Darstellung von Kreatininchlorzinkkrystallen nach.

Es würde zu weit führen, wollte ich alle die Untersuchungen, Versuche und Methoden, die angestellt und angewendet wurden, her zählen. Ihre Zahl ist Legion.

Es genügt darum wohl der Hinweis, dass noch der Geruch der Culturen, die Schnelligkeit des Wachstums, Sauerstoffbedingungen, Einwirkungen der Temperatur und des Lichtes herangezogen worden sind.

Aber auch durch alle diese ist man nicht in den Stand gesetzt, sichere Schlüsse auf die untersuchte Bakterienart zu ziehen und man ist nach wie vor auf das Gesammtergebnis der von mir oben berührten 6 Punkte angewiesen, soll der positive Befund mit Wahrscheinlichkeit sich für den Typhusbacillus oder für das *Bacterium coli commune* entscheiden.

¹⁾ Chantemesse: L'eau de source et la fièvre typhoïde à Paris. Sem. méd. 1894. 215.

²⁾ Zinno: Contributo allo studio dei processi biochemici dei batteri conspeciale riguardo allo diagnosi differenziale fra varii microorganismi simigianti. La rif. med. 1893, 218. Ref. Centralbl. f. Bact. XV, 428.

Gelegentlich einer Arbeit, die das Aufsuchen eines für das Wachsthum von Gonokokken günstigen und zugleich bequem herzustellenden Nährsubstrates bezweckte, hatte ich mir Harnnährböden construiert, die zu keinem sicheren Resultate führten und darum vorläufig bei Seite gestellt wurden.

Eine Vorlesung des Herrn Prof. Dr. Hauser, welche die Differenzirung zwischen dem *Bacterium coli commune* und dem *Typhusbacillus* zum Inhalt hatte und den Mangel an sicheren Unterscheidungs-Methoden abhandelte, wie die Ueberlegung, dass sowohl das *Bacterium coli commune*, wie auch der *Typhusbacillus* schon wiederholt im menschlichen Harn gefunden worden sind, und namentlich erstere Bacterienart nach den übereinstimmenden Untersuchungsergebnissen verschiedener Autoren eine wichtige Rolle bei der Entstehung entzündlicher Processe in den Harnwegen zu spielen vermag, veranlasste mich, für die Unterscheidung zwischen jenen beiden Bacterienarten obige Nährmittel als Grundlage zu nehmen, umsomehr, als deren Peptongehalt ein sehr schwacher war.

Es ist bekannt, dass das Gedeihen verschiedener Mikroben, die zu ihrer Lebensbedingung des Peptons nicht entrathen können, durch Verringerung desselben wesentlich eingeschränkt, wenn nicht gar gänzlich in Frage gestellt werden kann.

Ich unternahm darum einige Vorversuche und konnte sehr bald einen auffallenden Unterschied zwischen den beiden in Angriff genommenen Bakterien konstatiren, nämlich ein wesentliches Nachlassen des Wachstums des *Typhusbacillus* gegenüber dem üppigen Aufkommen des *Bacterium coli commune*.

Herr Professor Hauser, dem ich hiervon Mittheilung machte, ermunterte mich zu weiteren Versuchen und es sei mir an dieser Stelle gestattet, demselben für das freundliche Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte und für die liebenswürdige Unterstützung bei derselben meinen Dank auszusprechen. —

Die von mir benützten Nährböden sind folgenderweise hergestellt:

a. Harnbouillon.

100,0 Urin werden in einem Kölbehen mit 0,5 gr Pepton versetzt und, nachdem ein Verschluss durch einen Wattebausch hergestellt ist, 15 Minuten lang dem strömenden Dampf ausgesetzt.

Nachdem so die Lösung erfolgt ist, wird dieselbe filtriert und zu je 10 ccm in Reagensgläsern abgefüllt. Diese werden dann einer 2 bis 3 tägigen fractionierten Sterilisation von je 10 bis 15 Minuten unterworfen.

b. Harngelatine.

Ähnlich wird bei der Herstellung der Harngelatine verfahren, nur werden dem Harn neben dem $\frac{1}{2}$ procentigen Pepton noch 10 bis 12 Procent Gelatine hinzugefügt. Die Lösung beansprucht dann einen Zeitraum von 20 bis 25 Minuten. Hierauf wird durch einen Heisswassersfilter oder im Dampfbade filtriert und ebenfalls in Röhrchen abgefüllt und sterilisiert.

c. Harnagar.

Diesen erhält man, indem man genau wie bei der Harngelatine zu Werke geht und nur die Gelatine durch 2 procent. Agar-Agar ersetzt. Hierdurch ist allerdings ein längerer Aufenthalt im Dampfbade bedingt, da Agar schwerer löslich ist als Gelatine, doch genügen gemeinhin etwa 30 Minuten.

Es ist darauf zu achten, dass dieser Aufenthalt nicht gar zu lange ausgedehnt wird, da sich andernfalls der reichlich im Harn enthaltene Harnstoff zersetzt und die Phosphate ausgeschieden werden.

Der Harn ist in normalem Zustande klar, hellgelb und von saurer Reaction und frisch gelassen, von schwach aromatischem Geruch. Sein specifisches Gewicht ist starken Schwankungen unterworfen und beträgt im Mittel ungefähr 1,008 bis 1,020.

Für den am besten zu verwendenden Harn habe ich einen solchen von 1,012 specifischem Gewicht gefunden.

Bei genügender Sterilisation und dem Abschluss jedweden Luftzutritts lassen sich die mit ihm bereiteten Nährlösungen zwar längere Zeit unzersetzt aufbewahren.

doch empfiehlt es sich immerhin, nur geringe Quantitäten anzufertigen, schon aus dem Grunde, weil es nicht rathsam ist, Harn längere Zeit zu sammeln.

Der ungehinderte Luftzutritt ruft erhebliche Veränderungen hervor, es bilden sich starke Niederschläge und in der Folge alkalische Gährungszustände. Der Harn verbreitet dann einen widerlichen, ammoniakalischen Geruch und trübt sich stark, indem der Harnstoff in Ammoniumcarbonat umgewandelt wird. Darum ist nicht dringend genug anzurathen, nur frisch gelassenen Harn zu verwerthen.

Trotzdem kommt es mitunter vor, dass sich Krystalle und mikroskopisch kleine, runde Kügelchen von Mikrokokkengrösse, auch Stäbchenformen, die infolge ihres Aussehens von schwärmenden Zügen oder kleinen Häufchen leicht zu Irrungen Anlass geben können, einstellen.

Diese Störung kann durch eventuellen vorherigen Zusatz von einigen Tropfen reiner Salzsäure (vor der Sterilisation!) vermieden werden.

Für die verschiedenen Versuche wurden 12 verschiedene Culturen von *Bacterium coli commune* und 3 solche von *Bacillus typhi abdominalis* in Anwendung gebracht und zwar hatten die ersteren folgende Abstammung:

Bacter. coli com. α — eine gasbildende Reincultur aus dem patholog. anatom. Institut der Universität Erlangen.

Bacter. coli com. β — eine nicht gasbildende Reincultur derselben Provenienz.

Bacter. coli com. γ — aus normalen Fäces herrührend.

Bacter. coli com. δ — aus dem Dickdarminhalt einer Leiche.

Bacter. coli com. ϵ — auf dieselbe Art gewonnen.

Bacter. coli com. ζ — wie oben.

Bacter. coli com. η — von Normalfäces gezüchtet.

Bacter. coli com. θ } aus diarrhoischen Stühlen von

Bacter. coli com. ι } Patienten des Erlanger Kranken-

Bacter. coli com. κ } hauses stammend.

Bacter. coli com. λ — wiederum aus dem Dickdarminhalt einer Leiche und

Bacter. coli com. μ — Normalfäces.

Die Typhusculturen rührten aus dem pathologisch-anatomischen Institut der Universität Erlangen, dem hygienischen Institut der Universität Würzburg und dem hygienischen Institut der Universität Berlin her. Diese letzteren drei Culturen waren ausschliesslich bereits längere Zeit fortgezüchtete Reinculturen, während jene das *Bacterium coli commune*, soweit sie nicht aus dem Erlanger pathologisch-anatomischen Institut stammten, durch Umzüchtung, das heisst Herstellung von Verdünnungsplatten gewonnen wurden.

Diese Umzüchtung erfolgte durch Entnahme einer Spur der in Frage kommenden Fäces mittels der Oese eines sterilen Platindrahtes und Vermischen derselben mit dem Inhalt eines Röhrchens einer bei 40°C . gehaltenen normalen Gelatinenährlösung; weiteres Vermischen von 4 Oesen dieser als 1. Verdünnung geltenden Cultur mit dem Inhalt eines neuen Röhrchens und endlich Uebertragung von 6 Oesen dieser zweiten Verdünnung in ein drittes Röhrchen normaler Gelatinenährlösung.

Nach erfolgtem Ausgiessen und Erkaltenlassen dieser Culturen in Petrischälchen wurden dieselben bei Zimmertemperatur bei Seite gestellt, worauf nach Verlauf von 2 bis 3 Tagen die in den höheren Verdünnungen isolirten Colonien abgeimpft werden konnten.

Die so erhaltene Reincultur wurde dann auf schräg erstarrten Agarröhrchen weiter gezüchtet.

Bei den verschiedenen Versuchen, die ich angestellt habe, bin ich im Allgemeinen derart vorgegangen, dass ich von der in Angriff genommenen *Bacterium coli* Cultur 3 Platten mit 1, 4 und 6 Oesen nach oben angegebener Anweisung mit Harngelatine und zur Controle 3 Platten derselben Cultur mit gleichviel Oesen mit normaler Nährgelatine, von 10 pCt. Gelatinegehalt goss.

Ebenso wurden 3 Harngelatineplatten von einer der Typhusculturen neben 3 Normalgelatineplatten derselben Cultur angelegt.

Ferner gelangte eine Harnagarplatte zur Verwendung, auf welcher 3 Striche der zu untersuchenden Colonicultur neben 3 durchquerten Strichen der gleichfalls mit in

Frage stehenden Typhuscultur mittelst eines sterilen Platindrahtes aufgetragen wurden.

Genau derartig wurde wiederum zur Controle auch auf einer Normalagar enthaltenden Platte verfahren.

Endlich wurden noch je 2, Harn- und gewöhnliche Nährgelatine enthaltende Eprouvetten zur Stichcultur und je 2, Harn- und gewöhnliche Nährbouillon fassende Eprouvetten zur Sedimentsdifferenzirung in das Bereich der Untersuchung gezogen.

Solch einer Versuchsreihe wurde häufig gleichzeitig noch eine zweite, differente Typhuscultur zur sichereren Unterscheidung in den oben geschilderten Verhältnissen angefügt.

Hierbei möchte ich noch bemerken, dass alle mit Gelatine vorgenommenen Züchtungsversuche der Zimmertemperatur (18° C.), alle mit Agar vorgenommenen der Bruttemperatur (37° C.) ausgesetzt wurden.

Bevor eine Cultur zur Untersuchung herangezogen wurde, wurde sie behufs Bestimmung der Identität: im hängenden Tropfen auf Beweglichkeit, mit Bunge'scher Beizflüssigkeit auf Anzahl der Geisselfäden, im Gährungs-kölbchen behufs Gasbildung resp. Nicht-Gasbildung untersucht, auch der Indolreaktion unterworfen und ihr Wachsthum auf der Oberfläche sterilisirter Kartoffelscheiben beobachtet.

Wenn diese Factoren eine Uebereinstimmung ergaben, konnte, da überdies die Ursprungsquellen der Culturen bekannt waren, mit Gewissheit auf die Identität der letzteren geschlossen werden.

Die erzielten Resultate seien in Folgendem zusammengestellt: Das Plattenwachsthum in den Normalgelatinenährböden gestaltete sich bei den Coloniculturen derart, dass die ersten Platten sich schon nach 24 Stunden diffus getrübt hatten und ausgeschaltet werden mussten.

Auf den zweiten Verdünnungsplatten waren makroskopisch nach 48 bereits reichliche, kleine, punktförmige Colonien innerhalb der Gelatine zu sehen, die sich bald auch an der Oberfläche zeigten, um dort zu flachen, häutchenartigen Colonien auszuwachsen.

Die dritten Verdünnungsplatten liessen in dieser Zeit meist isolirte Häutchen erscheinen, die die Tendenz, sich auszubreiten, nicht verleugneten.

Mikroskopisch erwiesensich die tiefliegenden Colonien von runder, ovaler, ei- oder wetzsteinförmiger Gestalt, hellgelblicher bis gelbbrauner Farbe, scharfer Umrandung und feinkörniger Struktur.

Häufig war ein dunkleres Centrum und eine heller geschichtete Peripherie wahrzunehmen. Was das Oberflächenwachsthum betrifft, so kann ich dem Befunde Heim's¹⁾ vollinhaltlich beistimmen, welcher darüber folgendermassen berichtet: „Kommen sie (die Colonien) an die Oberfläche, so breiten sie sich dort mehr oder weniger aus und können, wenn Raum zur Verfügung steht, einen Durchmesser von 3—4 cm erreichen. In allen Fällen stellt sich die Ausbreitung als weisse, deutlich sichtbare (irrisierende) Decke von trockener Oberfläche dar mit rundem oder häufig unregelmässig gebuchtetem und gezacktem Contour. Die Dicke nimmt nach dem Rande zu ab, in der Mitte ist häufig ein den Ausgangspunkt markirender Nabel. Ausserdem trifft man noch Ansiedlungen, die ein dichteres, saftigeres Wachsthum und schon makroskopisch eine concentrische Anordnung erkennen lassen. Die individuellen Verschiedenheiten der Colonien vermehren sich noch bei der Betrachtung mit schwacher Vergrösserung. Die Oberfläche erscheint bald rissig, zerklüftet, von einem zarten, homogenen Saum umgeben, bald von moiréartig angeordneten, zierlichen Linien durchzogen, dann wieder radiär, wie von einem Scheitel ausstrahlend oder mit mäanderartiger Zeichnung des Randes. In manchen Colonien trifft man sternförmige Figuren und concentrische, sie umgebende Ringe: endlich, und nicht am seltensten ist die Oberfläche einfach homogen gekörnt.“

Die Typhusculturen bildeten in den tieferen Schichten kleine, runde, ovale oder wetzsteinförmige, hellgelblich bis gelbbraune, scharf begrenzte Colonien von leichter Granulation.

¹⁾ L. Heim: Lehrbuch der bakter. Untersuchungen etc., 1894, S. 382.

An der Oberfläche wuchsen sie zu grauweissen, flach ausgebreiteten, durchscheinenden, unregelmässig begrenzten Häutchen aus, die spinnenwebenartig von feinen Linien durchfurcht erschienen.

Auch hier erschien die erste Verdünnungsplatte nach 48 Stunden diffus getrübt, während die beiden anderen Platten nach dieser Zeit makroskopisch kleine punktartige Colonien aufwiesen.

Verflüssigung der Gelatine trat in keinem Falle ein.

Weder die tieferliegenden, noch die oberflächlichen Colonien konnten charakteristische Merkmale für das Auseinanderhalten der beiden Bakterienarten abgeben.

In der Gelatine-Stichcultur fand beim *Bacterium coli commune* das Wachsthum den ganzen Impfstich entlang statt, als weisslicher Faden, der aus feinen, weissen Kügelchen zusammengesetzt schien, eine feste, schwach gekörnte Grenze zeigte und an der Oberfläche vom Stichkanal aus ein dünnes Häutchen aussendete, ähnlich wie auf der Platte, das bald die Gesamtläche bis zum Rande des Reagensgläschens hin einnahm.

Das Verhalten des *Typhusbacillus* im Stich war gänzlich übereinstimmend, höchstens konnte vielleicht wahrgenommen werden, dass das Oberflächenwachsthum des Häutchens ein wenig zögernder vor sich ging.

Gaserzeugung konnte ich hierbei durch ein *Colonobacterium* nur in einem einzigen Falle bemerken.

Ebenso übereinstimmend verhielt sich der Befund in den Bouillonculturen. Die Flüssigkeiten waren gleichmässig getrübt und gleichartig sedimentirt.

Die Unterscheidung zwischen den beiden Bakterienarten in strichförmigen Aussaaten auf Normalagar gestaltete sich ebensowenig charakteristisch. Wenn wirklich einmal eine *Typhusbacillus*cultur die Tendenz zu erkennen gab, im Wachsthum etwas zurückbleiben zu wollen, so war sie doch binnen kurzer Zeit dem *Colonobacterium* völlig gleich stark gefolgt und ich verweise diesbezüglich auf die am Schluss angehefteten Tafeln, die eine photographische Reproduction der von mir angelegten Strichculturen, sowohl auf Normalagar, wie auf Harnagar veranschaulichen.

Die Striche auf Normalagar waren beim *Bacterium coli commune* makroskopisch durch weisslich graue Auflagerung von feucht glänzendem Aussehen und etwas nach der Mitte zu erhabenem Wachsthum gekennzeichnet und zeichneten sich mikroskopisch durch gelbliche Farbe, lappige, oft weite Ausbuchtungen und ziemlich scharfen Rand aus, der meist aus einer helleren Peripherie gebildet war.

Dieses Aussehen kam jenem der Typhusbacillencultur, die auf der nämlichen Platte angelegt war, so nahe, dass es makroskopisch und mikroskopisch von diesem nicht zu unterscheiden war.

Demnach wären also, wie ja auch bekannt, die Wachstumserscheinungen auf Normalgelatine. — Agar und — Bouillon derartig gleichmässig, dass ein Entscheid über die Identität des einen oder des anderen *Bacillus* nicht ohne Weiteres nach diesem Befund abgegeben werden könnte.

Auf den von mir construirten Nährböden verlief das Wachsthum der *Bacterium Coli*-Arten annähernd analog dem auf der Normalgelatine.

Die Harngelatine wurde in der ersten Verdünnungsplatte nach 24 Stunden schwach diffus getrübt und zeigte infolge der unzähligen Colonien, die sich gebildet hatten und keine Gelegenheit zur Ausbreitung fanden, ein verworrenes unbrauchbares Bild.

Die zweiten Verdünnungsplatten wiesen nach etwa 36 Stunden in der Mehrzahl makroskopisch eine Menge kleinster Pünktchen auf.

Ähnlich verhielt es sich mit den dritten Verdünnungsplatten, die nach 48 Stunden vereinzelte Colonien und oberflächliche Häutchen in die Erscheinung brachten.

Mikroskopisch liessen sich schon nach 20 Stunden in der zweiten Verdünnungsplatte die tiefliegenden Punkte als meist rundliche, aber auch ovale und eiförmige, hellgelbliche bis gelbbraune Colonien, von denen einzelne auch schon grössere Dimensionen mit dunklerer Nachfärbung angenommen hatten, erkennen. Die Um-

randung war scharf begrenzt, die innere Structur ziemlich fein und gleichmässig granulirt.

Nach 2 bis 3 Tagen waren die Colonien sämtlich gelbbraun, hatten ihren scharfen Rand beibehalten, ebenso ihre ziemlich feinkörnige Structur und waren häufig nach dem Rande zu in hellere Parthien geschichtet.

Ab und zu machte sich auch ein oberflächlich sich ausbreitendes Häutchen von schmutzig weisser Farbe und feuchtem Aussehen bemerkbar.

Auf den dritten Verdünnungsplatten bemerkte ich nach dieser Zeit neben den eben beschriebenen Colonien Häutchen, die, soweit ihr Contour noch geringe Dimensionen aufwies, gelbliche oder graue Farbe, unregelmässige Grenze und ziemlich feinkörnige (nach Art von Kügelchen) oder wellenlinienartige Structur zeigten. Die grösseren liessen ein gelbes Centrum und von diesem ausgehend gröbere, breitere Wellenlinien erblicken, die sich nach dem Rande hinzogen, so dass die Anordnung ein moiréartiges Aeusseres erhielt. Einige zeichneten sich durch feingekörnten Inhalt aus.

Häufig liess sich an der Stelle, von der das Wachstum auszugehen schien, ein kleiner, rundlicher Kern wahrnehmen.

Der Rand war gelblich oder opac und unregelmässig, doch bildete das ganze Häutchen zumeist einen zusammenhängenden, compacten Verband, der entweder weit und nicht sehr tief gebuchtet war, oder, wo er etwas zerklüfteter auftauchte, nur winzige Spitzen ausstendete, die sich nicht sehr weit auf der Gelatineoberfläche vorschoben. Jedenfalls liess sich seine ehemals runde Form nicht verleugnen.

Makroskopisch hatten die Auflagerungen ein feuchtes, grau weisses Aussehen.

Ganz anders dagegen verlief das Wachstum der Typhusbacillenculturen. Die Typhuscolonien, die auf den Platten für das blosse Auge, selbst nach 5 bis 6 Tagen, wo sie das Maximum ihres Wachstums erreicht hatten, nicht sichtbar wurden, (höchstens gaben sich vereinzelt nach 8—10 Tagen einige Häutchen in minimalster Anzahl durch kleinste, rundliche, blassgraue

Auflagerungen kund) waren in der ersten Verdünnung nach 36 Stunden als kleinste, wasserhelle, runde, das Licht stark brechende, äusserst fein granulirte Colonien mit dem Mikroskop sichtbar und natürlich so zahlreich vertreten, dass ebenfalls nur die zweiten und dritten Verdünnungsplatten für unsere Zwecke brauchbar wurden.

Dort waren die Colonien in eben beschriebener Form deutlich zu sehen und hatten nach etwa 4 bis 5 Tagen den Umfang von 2—2,5 mm erreicht. Diese sowohl, wie auch die weniger umfangreichen Colonien waren nur scheinbar scharf gerandet. Bei stärkerer Vergrösserung (Objectiv 4. Leitz) zeigte sich der Rand sehr fein gekerbt; rings um ihn schossen feinste Fädchen in gleichmässiger Anordnung heraus.

An der Oberfläche bildeten die Colonien nur kleine, durchscheinende, fein granulirte Häutchen, die nach allen Richtungen hin lange, schmale Ausläufer entsendeten, so dass sie ein sehr unregelmässiges, tief lappiges, eingebuchtes Aeusseres erhielten, das ein eigentliches Centrum vermissen liess. Es waren allerlei gewundene Figuren zu constatiren, die immer wieder Ausläufer emittirten. So namentlich ein Häutchen, das in medusenhauptähnlicher Form, ringsum eine zusammenhängendere Stelle geschlängelte oder geradlinigere Fädchen auslaufen liess.

Wenn wirklich einmal ein grösseres, zusammenhängenderes Häutchen auftauchte, das einen gelblichen Centralkern zeigte, dann war es durch die viel feinere Structur und die fadenförmigen Ausläufer, die es sehr unregelmässig gestalteten, wie auch durch die engere Buchtung leicht vom *Bacterium coli commune* zu unterscheiden.

Eine Verflüssigung der Harngelatine war in keinem Falle zu bemerken.

Ebenso charakteristisch fiel die Aussaat im Strich aus. Um jede Täuschung auszuschliessen, wurden in der oben bereits geschilderten Weise auf einer Harnagarplatte 3 Striche nebeneinander mittelst einer sterilen Platinnadel mit einer Coloneultur gezogen und daneben 3 solche mit einer Typhusbacillencultur, letztere mit einem vierten Striche durchquert. Nach 24 Stunden

waren die mit dem *Bacterium coli commune* beschickten Striche üppig, mit prominirender, feucht glänzender Oberfläche gewachsen, deren Farbe bei auffallendem Licht weisslich grau, bei durchfallendem bläulich weiss erschien, während der *Typhusbacillus*, wesentlich im Wachsthum zurückgeblieben, nach etwa 30 bis 36 Stunden durchscheinend, wie hingehaucht sich dem Blicke darbot.

Mikroskopisch zeigten die *Colonculturen* einen scharfen Rand in der Längsrichtung, der wohl theilweise durch neugebildete, hellere, rundliche Parthien unterbrochen wurde, immerhin aber auch diese scharfgerandet liess. Die Buchtung war eine weitgestreckte. Die Striche selbst waren gelb bis gelbbraun, mitunter mit hellerer Randzone. Der Innenraum war ab und zu etwas feiner granulirt, sonst aber grobkörnig und wies meist dunkel gefärbte, grössere oder kleinere rundliche Complexe auf.

Die Striche der *Typhuscultur* waren, wie schon erwähnt, durchscheinend und machten den Eindruck, als wären sie hingehaucht. Mitunter zeigte der erste Strich unter dem Mikroskop einen Stich ins Gelbliche. Die späteren Striche waren stets wasserhell, hatten im Ganzen einen zwar regelmässigen, aber doch keinen scharfen Rand, vielmehr schoben sich in der ganzen Längsrichtung eine Unzahl kleiner, blassgrauer oder heller Stäbchen- oder Fädchenverbände darüber hinaus, welche aus den typischen, bereits beschriebenen Windungen bestanden und allerhand Figuren bildeten. Diese Figuren waren durch lange, schmale Stolonen hervorgerufen, die nach verschiedenen Richtungen hin ausliefen.

Blieb bei sehr reichlicher Uebertragung der Strich etwas weniger zart, dann waren nur Fädchen wahrzunehmen, die über den Rand hinausragten; war er etwas rissig oder zerklüfteter, dann liessen sich auch innerhalb desselben an den freien Stellen der Spalten und Risse diese Stäbchen oder Fädchen überall constatiren. Immer aber zeigte die innere Structur der aufgetragenen *Culturen* jene feinsten Striche, nie granulirte oder complexartige Gebilde und ebenso war äusserlich in der Längs-

richtung trotz der Ausläufer eine gewisse, gleichmässige Anordnung zu erkennen.

Wo der Rand einmal eine scharfe Grenze zu markieren schien, liess auch hier eine stärkere Vergrösserung (Objectiv 4. Leitz) ihn, ähnlich wie bei den kleinen rundlichen Colonien auf der Harngelatineplatte, dennoch fein gekerbt erscheinen. In diese Kerben mündeten dann feinste strichartige Kanäle. Uebrigens schien der Entwicklung der Ausläufer die strichförmige Auftragung auf Harngelatine noch förderlicher zu sein, wenigstens waren sie hier üppiger und reichlicher zu beobachten, als auf Agar.

Mitunter traf es sich auch, dass sich dicht neben dem Hauptbelag des Impfstrichs allerfeinste, inselartig abgesonderte Oberflächencolonieen entwickelten; alle diese waren durch die typischen, tiefen, schmallappigen Buchtungen, die denselben das Aussehen von Stolonen verliehen, sofort als Typhusbacillen erkennbar.

Hatte einmal ein Häutchen, was selten vorkam, ein weniger zartes Aeusseres, so waren doch stets die Buchtungen eng und tief genug, um auch hier keine Verwechslung mit dem *Bacterium coli commune* aufkommen zu lassen.

In der Sticheultur der Harngelatine war das *Bacterium coli commune* längs des Sticheanals als weissgrauer, feinkörniger, gleichmässiger, etwa 2 mm breiter Faden gewachsen, dessen Rand feinkörnig gebuchtet erschien.

Von der Einstichöffnung aus breitete sich ein weisslich graues, dickes, feucht schimmerndes Häutchen nach dem Rande des Reagensglases aus.

Der Strich der Typhusbacillen war längs des Stichkanals ebenfalls etwa 2 mm breit, gleichmässig, zart, fast durchscheinend gewachsen und emittirte, einer Temperatur von 28° ausgesetzt, nach allen Seiten sehr winzige, zarte, mit einem Köpfchen versehene Fädchen, die seinem Rande aufsaßen. Diese Erscheinung wiederholte sich in allen angewandten Versuchen ohne Ausnahme.

Oberflächenwachsthum stellte sich nicht ein, höchstens bildete sich einmal eng um die Stich-

öffnung herum ein schwaches, schmales, letztere ringförmig einschliessendes Häutchen.

Die Harnbouillon wäre noch insofern erwähnenswerth, als die Sedimentirung weit erfolgreicher sich in den mit dem *Bacterium coli commune* geimpften Reagensröhrchen, als in denen des *Typhusbacillus* sich einstellte. Wurden die Niederschläge aufgewirbelt, dann erschien dementsprechend die das *Colonbacterium* enthaltende Flüssigkeit trüber, als die den *Typhusbacillus* bergende.

Von verschiedenen, auf den differenten Harnnährböden gezüchteten Reinculturen wurden Versuche im hängenden Tropfen unternommen und gefärbte Deckglas-, namentlich Klatzschpräparate hergestellt, wie auch die Milchprobe herangezogen.

In ersterem Falle zeigte sich das *Colibacterium* träge, der *Typhusbacillus* schneller eigenbeweglich.

In letzterem fand ich das *Colibacterium* als schlankes oder plumperes, meist einzeln, selten paarweise auftretendes Kurzstäbchen, den *Typhusbacillus* als plumpes, an den Enden abgerundetes Stäbchen, fast ausschliesslich in längeren oder kürzeren Fadenverbänden vor.

Was die Milchprobe anbetrifft, so konnte ich die Wahrnehmung machen, dass das *Bacterium coli commune*, dem Harnnährboden entnommen, die in Reagensröhrchen befindliche, sterile Milch stets aussäuerte, aber nie zum Gerinnen brachte und es würde damit der auffällige Befund übereinstimmen, nach dem dieses *Bacterium* zuweilen seine Fähigkeit der Milchgerinnung gänzlich verlieren soll (z. B. durch Schwächung, Wachstum auf mineralischen Nährböden etc.) und dieselbe erst durch mehrfache Uebertragung auf Normalagar wieder erlangt.

Der *Typhusbacillus* dagegen säuerte nach seinem Wachstum auf Harnsubstraten die Milch niemals an; im Gegentheil reagirte die mit ihm geimpfte Milch schwach alkalisch.

Ich habe schon in dem ersten Theil meiner Arbeit auf den von Lösener besprochenen, scheinbaren Widerspruch aufmerksam gemacht, dass Milch, die von Zuckerarten nur die, nach seiner Annahme für den Typhus-

bacillus wahrscheinlich unangreifbare Laktose enthält von diesem angesäuert wird, während er eine mit Laktose versetzte Bouillon stärker alkaliscirt.

Lösener erklärt diesen Vorgang durch, bei der Sterilisation der Milch eingetretene Veränderungen, denen zufolge Laktose vielleicht in leichter zerlegbare Zuckerarten übergeführt wird. Auch glaubt er hervorheben zu müssen, dass die meisten Bakterien, welche Zucker zerlegen können, diesen zuerst und dann das Eiweiss angreifen. Daher ist auch der in unseren Fleischwassernährböden etwa vorhandene Gehalt an Kohlehydraten zu berücksichtigen. Lösener meint, dass das zu den Nährböden verwendete Fleisch normaler Weise Glycogen enthält, welches bei den verschiedenen Manipulationen, wie Sterilisation etc. in leichter zerlegbare Zuckerarten umgesetzt wird und so von den Bakterien angegriffen und in saure Produkte übergeführt werden kann, während in Fleischwassernährböden ohne solchen Zuckergehalt sonst stets Alkali producirt wird.

Meine Erfahrung bestätigt demnach Lösener's Vermuthung, da hiernach der Typhusbacillus seine sonst säurebildenden Eigenschaften dem Fleischwassernährboden entlehnt haben müsste.

Da alle Versuche ein gleichmässiges Resultat lieferten und stets die Alkalescenzen aufwiesen, dürfte dieser Befund vielleicht ein Glied mehr in der Kette der zu verwendenden Unterscheidungsmerkmale bilden.

Zum Schluss möchte ich noch eines Versuches erwähnen, den ich angestellt habe, um die Verschiedenheiten in den Auflagerungen auf den Harnnährsubstraten noch markanter hervortreten zu lassen und der positiv ausgefallen ist.

Ich fügte nämlich von der in der Mikroskopie verwandten Böhmer'schen Haematoxylin-Lösung je 8 Tropfen in, Harnagar enthaltende Eproutetten, die schon 2—3 Wochen alt waren und schwach alkaliscirten. Diese setzte ich dann einer zweimaligen, je 15 Minuten währenden Sterilisation aus.

Haematoxylin ist gleichzeitig ein Reagens auf Alkali und färbt daher diese Nährböden schön dunkelblau.

Die so erhaltenen Substrate, mit den beiden besprochenen Bakterien geimpft, liessen das *Bacterium coli commune* in bläulichgrauer, undurchsichtiger, feuchter Auflagerung hervortreten, den *Typhusbacillus* jedoch transparent erscheinen, sodass derselbe die blaue Farbe des Nährbodens zeigte.

Bei allen den in die Untersuchung gezogenen Culturen, sowohl denen des *Bacterium coli commune*, wie denen des *Bacillus typhi abdominalis* konnte ich in den von mir angestellten Versuchen keine Abweichungen von dem geschilderten Verhalten constatiren.

Jedesmal erhielt ich dieselben Resultate und ich möchte darum die von mir angegebenen Methoden zur weiteren Prüfung empfehlen, denn es ist klar, dass es einer noch grösseren Reihe von Versuchen bedarf, um festzustellen, ob es sich hier wirklich um durchgreifende, für die Differentialdiagnose Ausschlag gebende Unterschiede zwischen *Bact. coli* und *Bac. typhi abdom.* handelt.

Was für die allgemeine Anwendung dieser Methode noch besonders günstig ins Gewicht fällt, das ist die bequeme, schnelle und leichte Herstellung der in Betracht kommenden Nährböden.

Im Anfang dürfte vielleicht das, nur bei älteren Nährböden vorkommende, Auftreten von Urinkrystallen und Harnbakterien etwas störend einwirken, jedoch gewöhnt sich das Auge leicht daran, derartige Einflüsse für die Untersuchung auszuschalten.

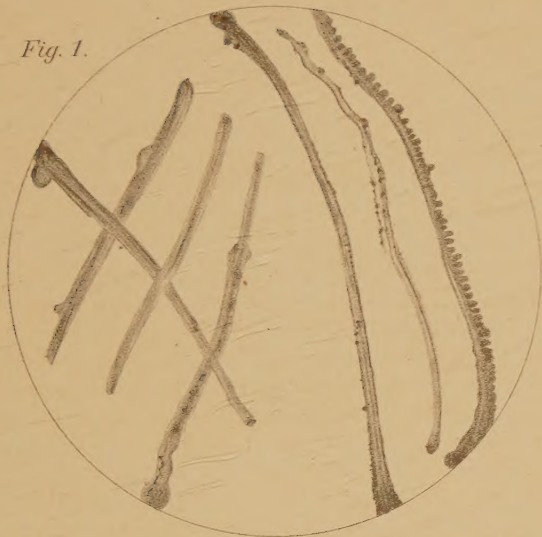
Lebenslauf.

Ich, Max Piorkowski, als Sohn des Kaufmanns Salomon Piorkowski und seiner Frau Rosalie geb. Cohn, in Beuthen, Oberschlesien, am 27. Mai 1859 geboren, jüdischer Confession, ebendort nach Absolvirung der Elementarschule das Gymnasium bis zur Obertertia und vertauschte dasselbe darauf mit dem Realgymnasium in Tarnowitz, welches ich mit dem Reifezeugniss für Obersecunda verliess.

Am 1. Juli 1877 trat ich als Lehrling in eine Apotheke Breslau's ein, wo ich im Juni 1880 die Gehilfenprüfung bestand. Von 1880—1883 conditionirte ich in verschiedenen Apotheken. (Katscher, Lübbecke und Berlin), diente vom Oct. 1883 bis Oct. 1884 beim I. Pos. Inf.-Reg. No. 18 in Beuthen, Oberschlesien, und studirte darauf bis zum Sommer 1886 in München, wo ich auch das Apotheker-Staatsexamen machte.

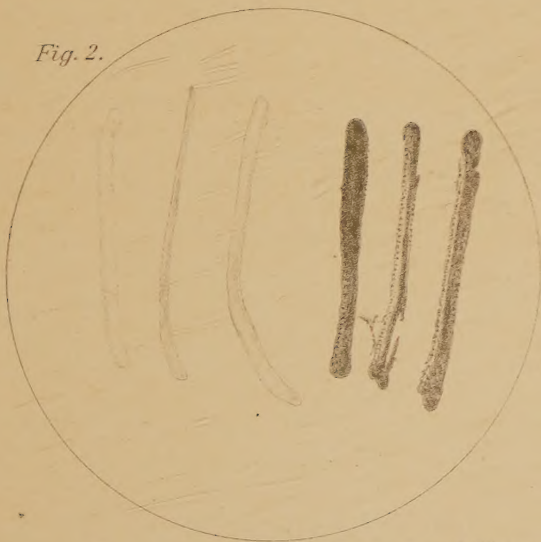
In den darauf folgenden Jahren übte ich meine praktische Thätigkeit in Apotheken von Oppeln und Berlin aus, bis mich im Sommer 1894 meine Neigung wieder zum Studium trieb. Ich widmete mich in Berlin und Erlangen dem Studium der Naturwissenschaften und promovirte mit vorstehender Arbeit im Wintersemester 1895/96 in Erlangen.

Fig. 1.



Typhusbac. α u. Bact. coli comm. β auf Normalagar.

Fig. 2.



Typhusbac. α u. Bact. coli comm. β auf Harnagar.

Fig. 3.

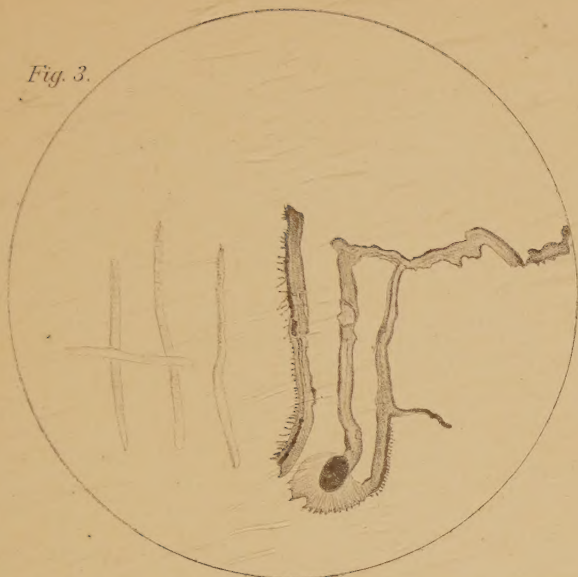
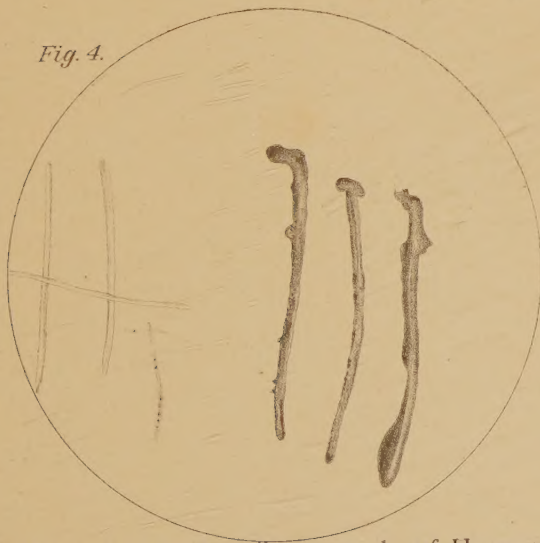
Typhusbac. β u. B. coli comm. ε auf Harnagar.

Fig. 4.

Typhusbac. γ u. B. coli comm. d auf Harnagar.

